

# SÚČASNÉ TRENDY V ANALÝZE ZMESÍ ORGANICKÝCH LÁTOK RÝCHLOU PLYNOVOU CHROMATOGRAFIOU

SVETLANA HROUZKOVÁ, MÁRIA ŠIMEKOVÁ,  
EVA MATISOVÁ a PETER KORYTÁR

*Katedra analytickej chémie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika  
e-mail: matisova@chf.stuba.sk*

Došlo dňa 7.V.2001

Kľúčové slová: rýchla plynová chromatografia, prchavé organické látky, semiprchavé organické látky

## Obsah

1. Úvod
2. Využitie rýchlej plynovej chromatografie v analýze zmesí organických látok
  - 2.1. Analýza prchavých organických látok
  - 2.2. Analýza semiprchavých organických látok
    - 2.2.1. Liečivá a steroidy
    - 2.2.2. Pesticídy
    - 2.2.3. Vyššie vrúce uhľovodíky, polychlórované bifenyly a iné semiprchavé látky
3. Záver

## 1. Úvod

Rýchla plynová chromatografia je v súčasnosti dôležitým trendom kapilárnej plynovej chromatografie. V konvenčnej kapilárnej plynovej chromatografii sa čas analýzy bežne pohybuje medzi 10–60 minútami a závisí od typu a počtu zložiek vzorky, experimentálnych podmienok, pričom sa uvažujú kolóny s vnútorným priemerom medzi 0,20 a 0,32 mm. Skrátenie času analýzy je predmetom záujmu analytických chemikov – chromatografistov už od roku 1958, kedy Golay prvýkrát prezentoval použitie kapilárnych kolón v plynovej chromatografii<sup>1</sup>. Odvtedy boli popísané rôzne spôsoby zrýchľovania analýz v kapilárnej GC, ako napríklad použitie „narrow-bore“ kolón<sup>2</sup>, rýchle programovanie teploty<sup>2,3</sup>, použitie krátkych kolón<sup>4</sup>, pripojenie vaku na koniec kolóny<sup>5</sup>, použitie vodíka ako nosného plynu<sup>6</sup>, použitie vyššieho prietoku nosného plynu, ako je optimum<sup>7</sup>, použitie viac selektívnej stacionárnej fázy a redukcia jej hrúbky<sup>8</sup>. Kombináciou uvedených spôsobov je možné dosiahnuť rôzne zrýchlenie analýz, a preto sa zaviedlo delenie na rýchlu GC, veľmi rýchlu GC a ultrarýchlu GC. Ako kritérium delenia bolo zvolené zvýšenie rýchlosti nosného plynu (zrýchľovací faktor)<sup>9</sup> alebo šírka píku<sup>10</sup>. Teória rýchlej GC je zhrnutá v prehľadovom článku<sup>11</sup>.

Najefektívnejším spôsobom, ktorý umožňuje skrátiť čas analýzy a súčasne zachovať separačnú účinnosť, je použitie „narrow-bore“ kolón s tenkým filmom stacionárnej fázy

v kombinácii s vodíkom ako nosným plynom. Skôr ako bolo možné úspešne použiť „narrow-bore“ kolóny, bolo potrebné vyvinúť inštrumentáciu, ktorá vyhovuje nasledujúcim požiadavkám: vysoké vstupné tlaky nosného plynu, úzka vstupná zóna vzorky a vysoká vzorkovacia frekvencia detektora. Zhodnotenie inštrumentácie pre rýchlu GC je rozpracované v prehľadovom článku<sup>12</sup>. Typický vstupný tlak v rýchlej GC je 400–2000 kPa. Dnešné plynové chromatografy sú už dodávané s elektronickou kontrolou tlaku až do 900 kPa s možnosťou použiť externý regulátor tlaku s väčším rozsahom. Chromatografické rozširovanie zóny je úmerné času analýzy, a preto so skracovaním analýzy sa šírka píkov znižuje. Typická šírka píkov v polovičnej výške je 0,2 s (v rýchlej GC) – 0,01 s (v ultrarýchlej GC)<sup>10</sup>. Aby dávkovacie zariadenie neovplyvňovalo výslednú šírku píku (a tým separačnú účinnosť kolóny), musí poskytovať dostatočne úzku vstupnú zónu. Na dávkovanie v rýchlej GC boli preto vyvinuté špeciálne dávkovacie zariadenia (dávkovacie ventily<sup>13</sup>, kryofokusačné dávkovače<sup>14</sup>), ale dobré výsledky veľmi často poskytuje aj štandardný „split“ dávkovač s vyšším „split“ prietokom<sup>15</sup>. Pri práci s programovanou teplotou je možné za určitých podmienok použiť aj „splitless“ dávkovač, dávkovač s programovanou teplotou odparovania PTV (programmed temperature vaporization) a „on-column“ dávkovač<sup>16,17</sup>, lebo úzka vstupná zóna je zabezpečená tepelnou fokusáciou pri nízkej počiatkovej teplote termostatu. Špeciálne požiadavky vyplývajúce z malej šírky píkov musia spĺňať aj detektory. Na dostatočné popísanie píku je potrebných aspoň 15–20 bodov, preto detektory musia poskytovať dostatočnú vzorkovaciu frekvenciu. Zo známych chromatografických detektorov sú pre rýchlu GC vhodné nasledujúce detektory: FID (max. 200 Hz),  $\mu$ -ECD (cit.<sup>18</sup>) (max. 50 Hz), TCD a z hmotnostných detektorov TOF-MS (cit.<sup>10</sup>) (max. 500 Hz).

Okrem toho si veľmi rýchla plynová chromatografia našla unikátne využitie v úplnej dvojrozmernej plynovej chromatografii (GCxGC) (cit.<sup>19</sup>). Obrovskou výhodou GCxGC techniky je, že poskytuje oveľa väčšiu píkovú kapacitu, identifikácia zložiek je presnejšia, pretože každá zložka je určená dvoma retenčnými časmi. Modulátor fokusuje chromatografickú zónu pred vstupom do detektora, čo priaznivo vplyva na medzu detekcie (cca 10× nižšia v porovnaní s jednorozmernou GC).

V tomto prehľadovom článku nadvižeme na vývoj rýchlej plynovej chromatografie<sup>11,12</sup> a poskytneme prehľad o najnovších trendoch v aplikáciách rýchlej plynovej chromatografie na analýzu zmesí organických látok.

## 2. Využitie rýchlej plynovej chromatografie v analýze zmesí organických látok

Použitie rýchlej GC je výhodné všade tam, kde sa GC používa na rutinné analýzy, pretože má rovnakú, a niekedy dokonca vyššiu separačnú účinnosť ako konvenčná kapilárna GC a každé skrátenie času analýzy umožňuje zvýšiť počet analyzovaných vzoriek, a tým výrazne znížiť prevádzkové náklady. Konvenčné zariadenia novej generácie, používané

pre rýchlu GC (vnútorný priemer kolóny  $\leq 0,1$  mm), umožňujú dosiahnuť faktor zrýchlenia 10–30. Špeciálne vyvinuté zariadenia pre rýchlu GC, používané hlavne pre veľmi rýchlu a ultrarýchlu GC, umožňujú skrátenie doby analýzy v porovnaní s konvenčnou kapilárnou GC 100–1000  $\times$ . Ultrarýchla GC však poskytuje veľmi nízku účinnosť (cca 7000 teoretických priehradiek), a preto jej praktické uplatnenie je takmer zanedbateľné. Veľmi rýchla GC (cca 25 000 teoretických priehradiek) sa používa pri rutinných separáciách jednoduchých zmesí a hlavne pri monitorovacích analýzach, kde je potrebné poznať výsledok čo najskôr po odbere vzorky.

Látky analyzované rýchlou GC sme rozdelili do skupiny prchavých a semiprchavých organických zlúčenín a v nasledujúcich kapitolách podľa uvedeného rozdelenia poskytneme prehľad najčastejšie analyzovaných vzoriek, spôsobov dávkovania, experimentálnych podmienok a použitej inštrumentácie. Uvedieme takisto prehľad dosiahnutých časov GC analýz a medzi detekcie podľa použitého detekčného systému.

## 2.1. Analýza prchavých organických látok

### Vzorky – typy, úprava a dávkovanie

Najčastejšie analyzovanými prchavými organickými látkami sú prchavé organické kontaminanty, ktoré sú považované za dôležitú skupinu prioritných polutantov a sú zaujímavé z hľadiska ochrany životného prostredia a zdravia človeka. Vzhľadom na to, že u týchto látok nie je problém s ich prevodením do plynného stavu, najpoužívanejšou technikou na ich analýzu je kapilárna GC. Je vyhľadávanou technikou nielen v analýze vzoriek životného prostredia, ale aj ropy, ropných produktov, biologických vzoriek, chemikálií a pod. Medzi najčastejšie analyzované látky patria: BTEX (benzén, toluén, etylbenzén, xylény), *n*-alkány a rozvetvené alkány, niektoré halogénderiváty uhľovodíkov, étery, acetáty a cykloalkány.

Najväčšia pozornosť v literatúre je venovaná environmentálnym vzorkám, ako je voda alebo vzduch<sup>20–23</sup>, zriedkavejšie sa vyskytli aplikácie na analýzu látok v zložitých tuhých matriciach, ako napríklad pôda<sup>26</sup>, liečivá<sup>27,28</sup>, a kvapalných, ako sú napríklad tryskové palivá<sup>29</sup>. V niektorých prípadoch boli analyzované len zmesi skúmaných látok v modelových zmesiach, napríklad modelová zmes BTEX (cit.<sup>26</sup>).

Koncentrácie dávkovaných analytov sa pohybovali väčšinou v oblasti pod 1 ppm, teda v ultrastopovej oblasti<sup>21,24,25</sup>. Niektoré látky boli analyzované v stopovej oblasti, teda od 1 ppm do 100 ppm<sup>10,22</sup>. Vyskytli sa aj koncentrácie nad 100 ppm (cit.<sup>26</sup>) a v jednom prípade bolo treba na analýzu použiť veľmi malý objem vzorky s vysokou koncentráciou analytov, pretože citlivosť metódy bola nízka<sup>30</sup>. Dávkované objemy boli rôzne v závislosti od použitého dávkovacieho systému.

V prípade, že analyzované zložky sú prítomné v matriciach nekompatibilných s GC alebo ich koncentrácie sú pod detekčným limitom, je potrebné robiť predkoncentráciu analytov, ich izoláciu z nežiaducej matrice, prípadne odstránenie interferujúcich zložiek. Na izoláciu prchavých látok z vody a pôdy sa používala najmä „headspace“ technika<sup>10,22,26,27,31</sup> alebo mikroextrakcia tuhým fázou (SPME) (cit.<sup>21</sup>).

Pri vzorkovaní vzduchu za atmosférického tlaku sa používa Tedlarovo plastické vrečko, spojené restriktorom cez septum so systémom GC. Nevyhnutnou súčasťou takéhoto dáv-

kovacieho systému je kryofokusačné zachytávacie zariadenie na zakoncentrovanie vzorky a jej následné nadávkovanie do chromatografickej kolóny v úzkej zóne<sup>23,25,26,32</sup>. Zaujímavým spôsobom dávkovania je použitie termického desorpčného modulátora, použitého na vyhrievanie kolóny priamo spojenej so vzorkovacou vialkou<sup>33</sup>. Takouto technikou je možné získať chromatogramy s frekvenciou  $1.s^{-1}$  pre analýzu *n*-alkánov C5–C8. Popri použití dávkovania pomocou dávkovacích ventilov dávkovania „split“, Magni a kol.<sup>34</sup> popísali nový kryogénny systém, ktorý dovoľuje dávkovanie „splitless“ do „narrow-bore“ kolóny.

V tabuľke I je uvedený detailný prehľad vzoriek, použitých spôsobov vzorkovania, predkoncentrácie, dávkovania a dávkovaných objemov pri analýzach prchavých organických zlúčenín.

### Inštrumentácia a chromatografické podmienky

Na separáciu prchavých organických látok rýchlou GC sa preferujú kremenné kapilárne kolóny s malým vnútorným priemerom (tzv. „narrow bore capillary columns“). Z porovnania kapilárnych náplňových a „open tubular“ kolón pre analýzu širokej škály uhľovodíkov metódou rýchlej GC vyplýva, že pre jednoduché zmesi obsahujúce málo zbrzdované látky je výhodnejšie použiť náplňovú kolónu, nakoľko najdôležitejšiu úlohu zohrávajú retenčné faktory a selektivita. Pre zložité zmesi obsahujúce vysokozbrzdované látky, pre separáciu ktorých je významná účinnosť kolóny, je vhodnejšie použiť „open tubular“ kolóny<sup>35</sup>. V súčasnosti sa používajú aj nerezové kapilárne kolóny, alebo sa kapilárna kolóna vkladá do kovovej rúrky s možnosťou odporového vyhrievania<sup>36</sup>.

Ako nosný plyn pri analýzach sa používa hélium<sup>10,21,22,30,32</sup> a vodík<sup>20,25,31</sup>. Najkratší čas analýzy bol dosiahnutý pri ultrarýchlej separácii zmesi 11 prchavých organických látok, 500 ms (cit.<sup>10</sup>), kde sa vyžadoval veľmi vysoký vstupný tlak hélia 450 kPa (konštantný prietok 400 ml.min<sup>-1</sup>). Ostatné časy analýz sa pohybovali v rozmedzí od niekoľko sekúnd po niekoľko minút (do 4 min).

Najčastejšie sa používal plameňovo-ionizačný detektor (FID) (cit.<sup>20,21,24–26,31</sup>) a hmotnostný spektrometer (MS) (cit.<sup>10,22,23</sup>), zriedkavejšie tepelno-vodivostný detektor (TCD) (cit.<sup>32</sup>) a „pulse discharge helium ionisation detector“ (PD HID) (cit.<sup>30</sup>).

Prehľad použitej chromatografickej inštrumentácie, teplotných režimov, časov analýz a medzi detekcie pre jednotlivé aplikácie rýchlej GC na analýzu zmesí prchavých organických látok je zhrnutý v tabuľke II.

## 2.2. Analýza semiprchavých organických látok

Podľa výskytu publikovaných prác v literatúre sa v nasledujúcich podkapitolách sústreďme na nasledovné skupiny semiprchavých látok: liečivá a steroidy, pesticídy, vyššie vrúce uhľovodíky, polychlóvané bifenylly a iné semiprchavé látky.

### 2.2.1. Analýza liečiv, drog a steroidov

#### Vzorky – typy, úprava a dávkovanie

Rýchlou plynovou chromatografiou boli analyzované viaceré druhy liečiv, drog a steroidov. V literatúre boli opísané aplikácie na analýzu látok detailne sumarizovaných v tabuľ-

Tabuľka I  
Dávkovanie vzoriek pri analýze prchavých organických zlučienin

Analyt	Vzorka	Dávkovaný objem; koncentrácia	Spôsob dávkovania <sup>a</sup>	Lit.
Benzén, toluén, xylény	mestský vzduch	100 ml	6-cestný dávkovací ventil s kryofokusáciou	23
BTEX	–	0,06 µl	4-cestný dávkovací ventil, „split“ 1:150	30
<i>n</i> -Pentán, <i>n</i> -hexán, benzén, <i>n</i> -heptán, toluén, <i>n</i> -oktán, izoméry 2-hexénu, 1-heptén, izoméry 2-hepténu, 1-oktén, izoméry 2-oktenu	modelová; vzduch	prietok 0,0083 ml.s <sup>-1</sup> , zachytávanie 20 s, konc. 150–500 ppb	priame dávkovanie za atmosferického tlaku, kryofokusácia, tepl. zachytávania –80 °C, tepl. desorpcie 210 °C	24
BTEX, <i>n</i> -oktán, <i>n</i> -nonán	modelová	1 ml; 160 ppm	priame dávkovanie za atmosferického tlaku, kryofokusácia, tepl. zachytávania –100 °C, tepl. desorpcie 100–200 °C	26
Benzén, toluén	póda	1 ml; „headspace“	dávkovanie za atmosferického tlaku, kryofokusácia	26
Pentán, 2,2-dimetylbután, 2-metylpenitán, hexán, etylacetát, benzén, 2-brómbután, heptán, 1-brómbután, toluén, oktán, chlórbenzén, etylbenzén	modelová	kontinuálny prúd vzorky	kolóna spojená s vialkou obsahujúcou vzorku cez septum, vyparovanie vzorky pri lab. teplote	32
Metyl- <i>tert</i> .butyléter, BTEX	voda kontaminovaná benzénom	25 µl „headspace“	6-cestný dávkovací ventil, kryofokusácia N <sub>2</sub> , teplota desorpcie –100 °C	20
<i>n</i> -Oktán, etylbenzén, <i>n</i> -nonán, 4-chlórtoluén, 1,2-dichlórbenzén	modelová	3 µl „headspace“	split od 10:1 do 100:1, kryofokusácia CO <sub>2</sub> , teplota desorpcie 450 °C	31
Toluén, <i>n</i> -oktán, <i>p</i> -xylén, <i>n</i> -nonán, 2-chlórtoluén, 1,3-dichlórbenzén	modelová	3 µl „headspace“	split od 10:1 do 100:1, kryofokusácia CO <sub>2</sub> , teplota desorpcie 450 °C	31
BTEX	modelová; voda	1 ml; 0,1 ppm z každej látky	splitless, SPME	21
<i>n</i> -Pentán, <i>n</i> -hexán, benzén, <i>n</i> -heptán, toluén, <i>n</i> -oktán	modelová; vzduch	1 µl; 50–105 ppb	split, kryofokusácia –90 °C	25
28 zlučienin (metóda EPA 624)	modelová; voda	„headspace“; 1 ppm a 2,5 ppm	upravovaný na objednávkú	22
Pentán, 2,3-dimetylbután, hexán, benzén, heptán, metylcyklohexán, toluén, <i>trans</i> -1,4-dimetylcyklohexán, oktán, <i>cis</i> -1,4-dimetylcyklohexán	modelová	1 µl „headspace“; á cca 1 ng	PTV injektor v „hot split“ móde pri 250 °C, 1:100	10
Uhlíkovodíky C1–C4, <i>n</i> -alkány C8–C12	modelová	–	split	35
40 organických rozpúšťadiel	modelové zmesi: liečivá	0,2 µl; „headspace“, 0,25–350 µg.ml <sup>-1</sup>	split 1:120, 1:60	27

<sup>a</sup> SPME – mikroextrakcia na tuhej fáze, PTV – injektor s programovateľnou teplotou odparovania, „split“ – spôsob dávkovania s delením vzorky, „splitless“ – spôsob dávkovania bez delenia vzorky, „headspace“ – dávkovanie pár vzorky nachádzajúcich sa nad jej povrchom

Tabuľka II

Prehľad použitých kolón, nosných plynov, teplotných programov, časov analýz, detektorov, GC prístrojov a jednotlivých medzí detekcie pri analýzach prchavých organických zlučienin

Analyt	Kolóna <sup>a</sup>	Nosný plyn	Čas analýzy	Teplotný režim	Detektor	Medza detekcie	GC prístroj	Lit.
Benzén, toluén	10 m×0,15 mm× 2 µm CP Sil 5 CB	neuveďený	3,87 min	120 °C	MS	benzén: 0,1 µg.m <sup>-3</sup>	DANI 86.10	23

Tabuľka II – pokračovanie

Analyt	Kolóna <sup>a</sup>	Nosný plyn	Čas analýzy	Teplotný režim	Detektor	Medza detekcie	GC prístroj	Lit.
BTEX	10 m×0,05 mm× 0,05 µm DB-1701	He; 0,1 ml.min <sup>-1</sup>	2,5 min	–	PD HID	–	Varian 1400	30
<i>n</i> -Pentán, <i>n</i> -hexán, benzén, <i>n</i> -heptán, toluén, <i>n</i> -oktán	1) 4 m×0,25 mm DB-5, 2) 4 m× 0,25 mm DB-WAX	neuveđený, 120 cm.s <sup>-1</sup>	30 s	50 °C	FID	benzén: 20 ppb, <i>n</i> -hep- tán: 37 ppb, toluén: 25 ppb, oktán: 47 ppb	Varian 3700	24
Benzén, toluén, <i>n</i> -oktán, etyl- benzén, xylén, <i>n</i> -nonán	8 m×0,25 mm, DB-1	neuveđený	20 s	–	FID	–	–	26
Benzén, toluén	8 m×0,25 mm, DB-1	neuveđený	18 s	–	FID	–	–	26
Pentán, 2,2-dimetylbután, 2- -methylpentán, hexán, etylace- tát, benzén, 2-brómbután, hep- tán, 1-brómbután, toluén, oktán, chlórbenzén, etylbenzén	0,84 m×0,1 mm× 0,25 µm SE.30	He; 250– 400 cm.s <sup>-1</sup>	3,5 s	tepl. gradient v čase aj pozdlž kolóny	TCD	–	–	32
Metyl- <i>tert</i> .butyléter (MTBE), BTEX	5 m×0,25 mm× 0,1 µm PDMS	H <sub>2</sub> ; 3–5 ml.min <sup>-1</sup> (100–170 cm.s <sup>-1</sup> )	15 s	izotermicky 40–60 °C	FID	MTBE: 44 µg.l <sup>-1</sup> , B: 8,1 µg.l <sup>-1</sup> , T: 7,7 µg.l <sup>-1</sup> , E: 23 µg.l <sup>-1</sup> , <i>m</i> -, <i>p</i> -Xy: 6,7 µg.l <sup>-1</sup> , <i>o</i> -Xy: 14 µg.l <sup>-1</sup>	–	20
<i>n</i> -Oktán, etylbenzén, <i>n</i> -nonán, 4-chlórtoleén, 1,2-dichlórbenzén	4 m×0,25 mm× 0,25 µm DB-1	H <sub>2</sub> , He; 140 cm.s <sup>-1</sup>	0,7 min	70 °C	FID	–	–	31
Toluén, <i>n</i> -oktán, <i>p</i> -xylén, <i>n</i> -nonán, 2-chlórtoleén, 1,3-dichlórbenzén	4 m×0,25 mm× 0,25 µm DB-1	H <sub>2</sub> , He; 140 cm.s <sup>-1</sup>	0,68 min	70 °C	FID	–	HP 6890	31
BTEX	4 m×0,25 mm× 0,25 µm SPB-5	He; 110 cm.s <sup>-1</sup> (priame dávk.), 220 cm.s <sup>-1</sup> („headspace“)	18 s (prie- me dávk.), 12 s („headspace“)	45 °C	FID	–	Varian 6500 Vista GC	21
<i>n</i> -Pentán, <i>n</i> -hexán, benzén, <i>n</i> -heptán, toluén, <i>n</i> -oktán	8 m×0,25 mm× 0,25 µm PDMS	H <sub>2</sub> ; 3,5–4,4 ml.min <sup>-1</sup> (120– 150 cm.s <sup>-1</sup> )	20 s	40 °C	FID	–	modifikovaný Varian 3700 GC	25
28 zlučenin (EPA 624)	2,5 m×0,1 mm× 0,6 µm SPB-1 alebo Vocol	He; 2,1 atm.	2,5 min	0 °C, 30 °C.min <sup>-1</sup> , 70 °C	IT MS	–	Varian Star 3400 GC	22
Pentán, 2,3-dimetylbután, hexán, benzén, heptán, methyl- cyklohexán, toluén, <i>trans</i> -1,4- dimethylcyklohexán, oktán, <i>cis</i> -1,4-dimethylcyklohexán	0,3 m×0,05 mm× 0,17 µm OV-1	He; 400 ml.min <sup>-1</sup> (450 kPa vstup. tlak)	500 ms	75 °C	EI-TOF -MS	–	HP 6890	10
<i>n</i> -Alkány C8–C12	1 m×0,05 mm× 0,2 µm DB-5	H <sub>2</sub>	20 s	120 °C	FID	–	HP 5890 Series II	35

Tabuľka II – pokračovanie

Analyt	Kolóna <sup>a</sup>	Nosný plyn	Čas analýzy	Teplotný režim	Detektor	Medza detekcie	GC prístroj	Lit.		
40 organických rozpúšťadiel	10 mx0,1 mmx 0,4 µm, DB 624	He; 38,1 psi	4,9 min/ 1,5 min	35 °C (0,69 min), 20 °C.min <sup>-1</sup> 90 °C, 50 °C.min <sup>-1</sup> , 180 °C (1 min)	FID	250 ng.ml <sup>-1</sup>	HP 6890	27		
<sup>a</sup> CP Sil 5 CB, DB-1, SE 30, OV-1, PDMS – 100 % polydimetylsiloxán, DB-5, SPB-5 – 5 % difenyl 95 % dimetylpolyxiloxán, DB 624 – 6 % kyanopropylfenyl 94 % dimetylpolyxiloxán, DB-1701 – 14 % kyanopropylfenyl 86 % dimetylpolyxiloxán, DB-WAX – polyetylénglykol, MS – hmotnostný spektrometer, PD HID – „pulsed discharge“ heliový ionizačný detektor, FID – plameňovoionizačný detektor, TCD – tepelnovodivný detektor, EI-TOF-MS – hmotnostný spektrometer s elektrónovou ionizáciou založený na meraní času preletu častíc, IT MS – hmotnostný spektrometer s iónovou pascou										
Tabuľka III										
Prehľad použitých spôsobov dávkovania vzoriek, kolón, nosných plynov, teplotných programov, časov analýz a spôsobov detekcie pri analýze liečiv										
Analyt	Vzorka	Dávkovaný objem, koncentr.	Injektor <sup>a</sup>	Kolóna	Nosný plyn	Čas analýz	Teplotný režim	Detektor	GC prístroj	Lit.
Metakvalón, fenyľbutazón, heroín	modelová	neuvedené	„home-made“ splitless	0,5 mx0,53 mm	He; 300 cm.min <sup>-1</sup>	<2 s	neuvedené	HSl-SMB- -MS	Varian 3400	37
Nortestosterón, β-estra- diol, dehydrotestosterón, oximetolón, stanozolol, cholesterol, kortikosterón	modelová	à 40 ng	split/splitless	4 mx0,25 mm	He; 2 ml.min <sup>-1</sup>	90 s	neuvedené	EI-SMB- -MS	Varian 3400	37
β-Estradiol, oximetolón, stanozolol, kortikosterón	modelová	à 40 ng	„on-column“ SPI	3 mx0,53 mm	He; 60 ml.min <sup>-1</sup>	60 s	max. 50 °C.min <sup>-1</sup>	EI-SMB- -MS	Varian 3400	37
β-Estradiol, kortizón	modelová	neuvedené	„home-made“	0,5 mx0,53 mm	He; 80 ml.min <sup>-1</sup> ; progr. prietok	8 s	rýchly tepl. program	EI-SMB- -MS	Varian 3400	37
Lidokaín	extrakt ľud- skej plazmy	0,1 µl; 1–10 ppb	splitless	0,5 mx0,53 mm	He; progr. prietok	<5 s	rýchly tepl. program	HSl-SMB- -MS	Varian 3400	37
Kaféin, lidokaín, amitri- pylín, imipramín, fenyľ- butazón, chlórpromazín	moč	0,3 µl; à 1 ppm	neuvedené	4 m, „narrowbore“	He; 6 ml.min <sup>-1</sup>	<3 min	neuvedený	EI-SMB- -MS	Varian 3400	37
Retinol, retinal, chlorpro- mazín, chinín	neuvedené	neuvedené	split/splitless	4 mx0,25 mm	program. prietoku	1 min	150 °C, 50 °C.min <sup>-1</sup> , 300 °C	EI-SMB- -MS	Varian 3400	9
Spektinomycín	neuvedené	neuvedené	„home-made“ splitless	0,5 m „megabore“ kap. kolóna (1)	neuvedený	<4 s	260 °C	EI-SMB- -MS	Varian 3400	9
17β-estradiol	extrakt z mo- ču a plazmy	0,2 µl; 100 ppb	„home-made“ splitless	0,5 m „megabore“ kap. kolóna (1)	neuvedený	<6 s	190 °C	EI-SMB- -MS	Varian 3400	9

Tabuľka III – pokračovanie

Analyt	Vzorka	Dávkovaný objem, koncentr.	Injektor <sup>a</sup>	Kolóna	Nosný plyn	Čas analýz	Teplotný režim	Detektor	GC prístroj	Lit.
Paracetamol, kodeín	tabletky	neuvedené	s laserovou desorpciou	0,5 m×0,53 mm	He; 240 ml.min <sup>-1</sup>	<8 s	neuvedený	SMB-MS	neuvedený	38
Kafeín	moč	5 µl; 1 ppm	s laserovou desorpciou	0,5 m×0,53 mm	He; 240 ml.min <sup>-1</sup>	<3 s	neuvedený	HSL-SMB- -MS	neuvedený	38
Lidokaín	krv myši	1 ppm	s laserovou desorpciou	0,5 m×0,53 mm	He; 240 ml.min <sup>-1</sup>	<7 s	izotermicky, 120 °C	HSL-SMB- -MS	neuvedený	38
Tetrahydrokanabiol (THC), THCA amfetamíny, <i>d,l</i> -metamfetamín, benzoylglukonín, opiáty		0,1–0,2 µl; 15–200 ppb	splitless split (50:1)	5 m×0,1 mm	neuvedený	<1,5 min 1,4 min	neuvedený	MS	6890 GC/ 5973 MSD	39

<sup>a</sup> SPI – septom vybavený programovateľným injektor, (1) – použitý jeden z troch typov nepolárnych stacionárnych fáz: DB-1 (0,15 µm) s polydimetylsiloxánovou stacionárnou fázou, BPX5 (0,25 µm), HT5 (0,15 µm), obe s metylfenylsiloxánovou fázou; „narrow bore“ kolóna – kolóna s vnútorným priemerom ≤ 0,32 µm, „megabore“ kolóna – kolóna s vnútorným priemerom ≥ 0,53 µm, EI-SMB-MS – hmotnostný spektrometer so supersonickým molekulovým lúčom a elektrónovou ionizáciou, HSI – „hyperthermal surface“ ionizácia

Tabuľka IV

Prehľad použitých spôsobov dávkovania, kolón, nosných plynov, teplotných režimov, detektorov a GC prístrojov pri analýze pesticídov

Analyt	Vzorka	Dávkovaný objem, koncentr.	Spôsob dávkovania	Kolóna	Nosný plyn	Čas analýz	Teplotný režim	Detektor	GC prístroj	Lit.
Aldikarb, propoxur, karbofurán, aldikarb- sulfón, karbaryl, linurón	neuvedené	à 40 ng	splitless	3 m×0,53 mm	He; 40 ml.min <sup>-1</sup>	<90 s	90 °C, 50 °C.min <sup>-1</sup> , 170 °C	EI-SMB-MS	Varian 3400	9
Aldikarb, aldikarbsulfón	neuvedené	à 200 ng	„home-made“	0,5 m×0,53 mm	neuvedený	<5 s	160 °C	EI-SMB-MS	Varian 3400	9
10 organofosforečných pesticídov	modelová, v octane metylhatom	1 µl	splitless	5 m×0,25 mm× 0,2 µm RTX 5	He	2 min	50 °C (15 s), 557 °C.min <sup>-1</sup> , 140 °C, 100 °C.min <sup>-1</sup> , 310 °C (60 s)	FID	HP 5890	40
15 organofosforečných insekticídov	modelová, extrakt z pšenice	1 µl, 2–4,87.10 <sup>3</sup> ng.ml <sup>-1</sup>	splitless	5 m×0,25 mm× 0,2 µm RTX 5	He; 1 ml.min <sup>-1</sup>	3,7 min	60 °C (30 s), 120 °C.min <sup>-1</sup> , 90 °C, 63,5 °C.min <sup>-1</sup> , 180 °C, 82,9 °C.min <sup>-1</sup> , 325 °C (85 s)	FPD <sup>a</sup> , NPD	HP 5890, HP 6890	41
17 triazínových herbicídov	modelová	1 µl	splitless	5 m×0,25 mm× 0,25 µm RTX 5	He	2,2 min	50 °C (15 s), 100 °C.min <sup>-1</sup> , 300 °C	FID	HP 5890	40
8 organochlórovaných pesticídov	modelová, v hexáne	0,3 µl	splitless	5 m×0,05 mm× 0,2 µm CP-Sil 5 CB	He; 12 atm.	<8 min	50 °C (3 min), balli- sticky do 280 °C	ECD	Carlo Erba 4160 Fractovap	42



Tabuľka IV – pokračovanie

Analyt	Vzorka	Dávkovaný objem, koncentr.	Spôsob dávkovania	Kolóna	Nosný plyn	Čas analýzy	Teplotný režim	Detektor	GC prístroj	Lit.
Aldikarb, metylparatión	listy pomarančovníka	–	s laserovou desorpciou	0,5 m×0,53 mm	He; 240 ml.min <sup>-1</sup>	<4 s	neuvadený	SMB-MS <sup>b</sup>	–	38
Metylparatión	vo vode	–	s laserovou desorpciou	0,5 m×0,53 mm	He; 240 ml.min <sup>-1</sup>	<5 s	125 °C	SMB-MS-SIM	–	38
12 organochlórovaných pesticídov	vo vode	1 µl, 100 ng.ml <sup>-1</sup>	SFME-GC split 1:10	5 m×0,1 mm×1 µm metyl-fernyl (5%) silikón	He; 1,8 ml.min <sup>-1</sup>	<2,5 min	220 °C (0,2 min), 20 °C.min <sup>-1</sup> , 266 °C	„pulsed discharge“ ECD	Varian 3400	43
Lindán (L), forát(F), ronel(R)	v pôde	L: 8,4 ppm, F: 8,5 ppm, R: 24,5 ppm	on line SFPE-GC <sup>c</sup>	1,5 m×0,05 mm×0,25 µm DB-5	CO <sub>2</sub> ; 0,86 ml.min <sup>-1</sup>	<22 s <sup>d</sup>	210 °C	RPD	–	23

<sup>a</sup> V prípade použitia odporového vyhrievania (EZ Flash), <sup>b</sup> aldikarb: „full scan mode“, metylparatión: SIM, <sup>c</sup> SFPE – superkritická fluidná extrakcia, RTX5 – 5 % fenyl 95 % polydimetylsiloxán, RPD – prvko selektívny rádiovfrekvenčný plazmový detektor, <sup>d</sup> kompletná kvantitatívna analýza 10 min

## Tabuľka V

Prehľad použitých spôsobov dávkovania, kolón, nosných plynov, teplotných programov, detektorov a GC prístrojov pri analýze vyššie vrúcich uhľovodíkov, polychlórovaných bifenylov a iných semiprachavých látok

Analyt <sup>a</sup>	Vzorka	Dávkovaný objem, koncentr.	Spôsob dávkovania	Kolóna	Nosný plyn	Čas analýzy	Teplotný program	Detektor	GC prístroj	Lit.
<i>n</i> -Alkány C7–C30	testovacia zmes	1 µl	split, 1:40	5 m×0,25 mm×0,2 µm RTX 5	He; 50 kPa	31,5 s	50 °C, (6 s), 790 °C.min <sup>-1</sup> , 300 °C	FID	HP 5890	40
<i>n</i> -Alkány do C23	dieselové palivo	0,06 µl	split	10 m×0,1 mm×0,2 µm DB-5	H <sub>2</sub>	do 35 min	60 °C, 6 °C.min <sup>-1</sup> , 260 °C	FID	HP 5890 Series II	35
<i>n</i> -Alkány C10–C42	testovacia zmes	–	split	5 m×0,32 mm×0,25 µm RTX 5	neuvadený 300 kPa	1,5 min	80 °C, 30 °C.min <sup>-1</sup> , 140 °C; EZ Flash: 80 °C, 4 °C.s <sup>-1</sup> , 375 °C	FID	HP 6890	44
Alkány C10–C40	minerálne oleje	–	splitless	5 m×0,32 mm×0,25 µm RTX 5	neuvadený 300 kPa	1,3 min	600 °C, 30 °C.min <sup>-1</sup> , 140 °C; EZ Flash: 350 °C, 16 °C.s <sup>-1</sup> , 550 °C	FID	HP 6890	44
Toxické látky (fenoly, krezoly)	dieselové palivo	–	split	5 m×0,32 mm×0,25 µm RTX 5	neuvadený 55 kPa	8 min	80 °C, 30 °C.min <sup>-1</sup> , 140 °C; EZ Flash: 80 °C, 4 °C.s <sup>-1</sup> , 375 °C	FID	HP 6890	44
Alkány C6–C20	modelová, ropné frakcie	–	headspace, split 1:700	3 m×0,1 mm, fenyl (5%) metyl-silikón	He; 18 psi	3,6 min	50 °C, 0,5–5 °C.min <sup>-1</sup> , 280 °C	FID	HP 5890	45
Alkány C6–C44	modelová, ropné frakcie	0,2 µl; 100x zried.	on-column	1 m×0,1 mm×0,4 µm SE 54 + 15 cm×0,53 mm predkolóna	He	8 min	-20 °C, 40 °C.min <sup>-1</sup> , 350 °C	FID	ThermoQuest TRACE GC	51

Tabuľka V – pokračovanie

Analyt <sup>a</sup>	Vzorka	Dávkovaný objem, koncentr.	Spôsob dávkovania	Kolóna	Nosný plyn	Čas analýzy	Teplotný program	Detektor	GC prístroj	Lit.
Alkány C10–C28	modelová	1–5 µl; 1,6–8 ng.ml <sup>-1</sup>	on-column	4,8 m×0,1 mm× 0,4 µm HP-1 MS	H <sub>2</sub> ; 100 psi	30 min	80 °C, 65 °C.min <sup>-1</sup> , 300 °C	FID	HP 6890	17
PAH	štandard EPA 610 PAH	0,3 µl	splitless	5 m×0,05 mm× 0,17 µm DB-1	neuveďený 11 atm	12 min	50 °C (2 min), balist. grad., 300 °C	MS	Fisons GC 8000	46
16 EPA PAH	modelová	1 µl	splitless	5 m×0,25 mm× 0,2 µm RTX 5	He; 50 kPa	3 min	50 °C, (30 s), 100 °C.min <sup>-1</sup> , 320 °C	FID	HP 5890	40
PAH	modelová	1 µl; 20 pg.µl <sup>-1</sup>	PTV	5 m×0,1 mm× 0,10 µm DB-5 MS	neuveďený	6 min	40 °C (0,5 min), 100 °C.min <sup>-1</sup> , 300 °C (2 min),	TOF MS	ThermoQuest TRACE GC	52
Uhľovodíky, prístane, phytane	dieselové palivo	1 µl; 10x zried.	split 1:100	10 m×0,1 mm× 0,4 µm HP-1	H <sub>2</sub> ; 411 kPa	2,6 min	100 °C, 75 °C.min <sup>-1</sup> , 325 °C (1 min)	FID, 100 Hz	HP 6890	48
PCB	Aroclor 1254	1 µl; 0,5 µl.ml <sup>-1</sup>	splitless	3 m×0,25 mm, DB-1, 3 m, 6 m, 10 m×0,25 mm SP-608	H <sub>2</sub> ; 95–250 cm.s <sup>-1</sup>	<6 min	rôzne teplotné programy	ECD	Varian 3600	47
PCB	Arochlor 1242, 0,3 µl transform. olej, SFE extrakt sedimentu	0,3 µl	split, splitless	5 m×0,05 mm× 0,2 µm CP-Sil 5 CB	He; 12 atm	11–15 min	50 °C, 20 °C.min <sup>-1</sup> , 280 °C, 50 °C (3 min), balist. po 280 °C, 40 °C, (4 min), 20 °C.min <sup>-1</sup> , 275 °C	ECD	Carlo Erba 4160 Fractovap	42
PCB	odpadový olej	0,5 µl	split 1:1200	5 m×0,05 mm× 0,17 µm DB-1	neuveďený 11 atm		50 °C, balist. grad., 280 °C	MS	Fisons GC 8000	46
PCB	PCB v hexáne	1 µl	splitless	10 m×0,1 mm× 0,1 µm HP-5	H <sub>2</sub> ; 177 kPa	13,01 min	50 °C, 40 °C.min <sup>-1</sup> , 150 °C, 14,2 °C.min <sup>-1</sup> , 270 °C (1,06 min)	µ-ECD	HP 6890	48
C9–C30, deriváty terpénov	štandardná zmes <i>n</i> -alká- nov, esen- ciálne citrus. oleje	1 µl; 70 ppm, 30x zried.	split 1:100	10 m×0,1 mm× 0,1 µm RTX 5 MS	He; 261,7 kPa	<16 min	50 °C, 12,3 °C.min <sup>-1</sup> , 350 °C	MS	Shimadzu GC/MS QP505A	49
Esenciálne oleje	muškátový a citrónový olej	1 µl	split 1:500	20 m×0,1 mm× 0,4 µm HP-1	H <sub>2</sub> ; 411 kPa	25,94 min	50 °C, 11,88 °C.min <sup>-1</sup> , 275 °C (7 min)	FID	HP 6890	48
Bakteriálne mastné kyseliny	štandardná zmes	1 µl	split 1:50	10 m×0,1 mm× 0,1 µm HP-5	H <sub>2</sub> ; 276 kPa	3,6 min	50 °C, 20 °C.min <sup>-1</sup> , 250 °C	FID	HP 6890	48
Mono-, di-, tri-, tetra- etyléň glykoly	priemyselná zmes oligomérov	1 µl	split 300 ml.min <sup>-1</sup>	5 m×0,32 mm× 0,25 µm RTX 5	neuveďený 45 kPa	0,55 min	40 °C, 120 °C.min <sup>-1</sup> , 100 °C; EZ Flash: 40 °C, 15 °C.s <sup>-1</sup> , 300 °C	FID	HP 6890	44

<sup>a</sup> PAH – polyaromatické uhľovodíky, PCB – polychlorované bifenyly



ke III. Väčšina z uvedených zlúčenín boli tepelne nestále látky a pri ich analýze konvenčnou GC dochádzalo k tepelnému rozkladu<sup>9,37</sup>. Heroín je jedna z najmenej prchavých drog, a aj napriek tomu sa ho podarilo úspešne analyzovať použitím rýchlej GC (cit.<sup>37</sup>).

Vzorkami najčastejšie analyzovanými rýchlou GC sú vzorky so zložitými maticami, ako je moč, plazma, krv<sup>9,37,38</sup>, ďalej tuhé vzorky ako tabletky lieku a list pomarančovníka<sup>38</sup> alebo jednoduché modelové vzorky<sup>9,37,39</sup>.

Na dávkovanie vzorky do plynového chromatografu bolo použitých viacero dávkovacích systémov:

- ultrarýchla GC – „split/splitless“ injektor<sup>39</sup> a upravený „split/splitless“ injektor spojený s 50 cm „megabore“ kapilárnou kolónou<sup>9,37</sup>,
- veľmi rýchla GC – septom vybavený „splitless“ injektor s programovateľnou teplotou (SPI – septum equipped temperature programmable injector)<sup>37</sup>,
- rýchla GC – „split/splitless“ injektor<sup>9,37</sup>.

Shahar a kol.<sup>38</sup> vo svojej práci prezentovali metódu, ktorá je založená na dávkovaní vzorky desorpciou laserom. Výhodou tohto spôsobu dávkovania je, že sa snaží úplne vyhnúť predúprave vzorky alebo ju obmedziť, a umožnil tak pracovať so vzorkami, ako je napríklad list pomarančovníka alebo celá tabletky lieku.

Koncentrácie skúmaných analytov sa pohybovali v stopovej (1 ppm až 100 ppm) (cit.<sup>37,38</sup>) a ultrastopovej oblasti (pod 1 ppm) (cit.<sup>9,37,39</sup>), teda v oblasti nízkych koncentrácií. Dávkované objemy boli malé, v rozmedzí od 0,1 ml do 0,3 ml (cit.<sup>9,37,39</sup>).

Detaily o jednotlivých vzorkách, dávkovaných objemoch, koncentráciách látok a spôsoboch dávkovania sme zhrnuli v tabuľke III.

#### Inštrumentácia a chromatografické podmienky

Na separácie jednotlivých zmesí boli použité kolóny rôznych rozmerov. Pri ultrarýchlej a veľmi rýchlej GC sa väčšinou pracovalo s 50 centimetrovou kolónou s vnútorným priemerom 0,53 mm (megabore capillary column) s nepolárnou stacionárnou fázou<sup>9,37,38</sup>. Niektoré polárne látky spôsobovali chvostovanie chromatografických píkov, ktoré mohlo byť potlačené použitím kolóny s vyššou polaritou. Použitie „megabore“ kolón s vnútorným priemerom 0,53 mm bolo veľmi výhodné, pretože umožňovalo „on-column“ dávkovanie, a tak minimalizovalo rozklad analytu v injektore<sup>9</sup>. Pre rýchlu GC sa použili kolóny s vnútorným priemerom 0,1 mm (cit.<sup>39</sup>) a 0,25 mm (cit.<sup>9,37</sup>).

Časy analýz sa pohybovali v rozmedzí od 3 s do 3 min. Nosným plynom bolo hélium<sup>37,38</sup> a jeho prietoky boli oveľa väčšie pri kratších analýzách, napr. 80 ml.min<sup>-1</sup> pre analýzu trvajúcu okolo 8 s a 2 ml.min<sup>-1</sup> pre analýzu trvajúcu 90 s (cit.<sup>37</sup>).

Vo všetkých prípadoch bol na detekciu použitý hmotnostný spektrometer. Vzorka bola pred samotnou detekciou ionizovaná v supersonickom molekulovom lúči<sup>9,37,38</sup>. Pri použití SMB-MS (supersonic molecular beam) systému pre detekciu termicky nestálych zlúčenín nebol pozorovaný rozklad týchto látok, čo je veľkou výhodou tohto spôsobu detekcie. SMB-MS detektor je veľmi citlivý a selektívny a dovoľuje veľmi rýchlu analýzu<sup>9</sup>. Medza detekcie pre lidokaín v ľudskej plazme, ktorý bol analyzovaný ultrarýchlou GC, bola pod 100 ppt (1,6 fg lidokaínu) a pre zmes 6 liečiv (kaféin, lidokaín, amitriptylín,

imipramín, fenylbutazón, chlórpromazín) sa medza detekcie pohybovala v nízkych ppb oblastiach<sup>37</sup>. V ostatných prípadoch medza detekcie nebola udaná.

V tabuľke III je uvedený prehľad inštrumentácie, použitých kolón, nosných plynov, časov analýz a teplotných režimov.

#### 2.2.2. Analýza pesticídov

##### Vzorky – typy, úprava a dávkovanie

Metódou rýchlej plynovej chromatografie boli analyzované nasledovné skupiny pesticídov: karbamátové pesticídy<sup>9,38</sup>, organofosforečné insekticídy<sup>40,41</sup>, triazínové herbicídy<sup>40</sup>, organochlórované pesticídy<sup>38,42,43</sup>.

Vzorky boli do kolóny dávkované okrem najfrekventovanejšie používaného split/splitless“ dávkovača<sup>9,40,42,43</sup> aj „home-made“ injektorom pri ultrarýchlej analýze<sup>9</sup>, použitím laserovej desorpcie<sup>38</sup>, alebo použitím on line kombinácie superkritickej fluidnej extrakcie (SFE) a rýchlej GC, kde bol medzi analytickú kolónu a extrakčnú celu zaradený termický desorpčný modulátor na zavedenie vzorky do kolóny<sup>23</sup>.

Dávkované objemy vzorky a množstvá analytov boli rôzne. Pri analýze kvapalných vzoriek sa najčastejšie dávkoval 1 µl vzorky s analytmi v nanogramových množstvách.

Na desorpciu laserom a následné nadávkovanie do kolóny<sup>38</sup> sa použilo 5 µl vodného roztoku aldikarbu a metylparatiónu obsahujúceho analyty v množstve 1 mg.ml<sup>-1</sup>. Termálne modulovaný systém SFE/fast GC bol použitý na analýzu prchavých organických zlúčenín v pôdnych maticiaciach. Vzorka pôdy bola vložená do extrakčnej cely a pred extrakciou vyhriata na teplotu 50 °C na 5 minút. Potom nasledovala dynamická extrakcia pri konštantnom tlaku a teplote. Prúd extrakčného plynu po vyextrahovaní analytov bol kontinuálne delený na dve časti, z ktorého jedna časť bola vedená do zariadenia TDM (termálny desorpčný modulátor) a odtiaľ odporovým vyhrievaním v pravidelných časových intervaloch boli skúmané analyty desorbované a vedené do kolóny<sup>23</sup>.

Pred analýzou je potrebné urobiť úpravu vzorky, ktorá väčšinou zahŕňa rozpúšťanie alebo zakonzentrovanie vzorky. Zmes organofosforečných pesticídov a zmes triazínových herbicídov boli rozriedené v etylacetáte<sup>40</sup>. Organochlórované pesticídy boli izolované z vodnej matrice mikroextrakciou na tuhej fáze (SPME). Extrakcia trvala 2 minúty a potom nasledovala desorpcia tiež 2 minúty priamo do analytickej kolóny<sup>43</sup>.

Vzorka s obsahom pesticídov<sup>23</sup> lindán, forát a ronel bola upravená superkritickou fluidnou extrakciou pri 50 °C a tlaku 350 atm. SFE jednotka bola v „on line“ zapojení s fast GC systémom. Do extrakčnej cely bolo umiestnených cca 0,2 g vzorky pôdy v prípade, keď sa analyzovali zlúčeniny obsahujúce chlór, respektíve síru. V prípade použitia laserového desorpčného injektora nebolo treba vzorky upravovať<sup>38</sup>.

V tabuľke IV je uvedený prehľad jednotlivých analytov, použitých spôsobov dávkovania a koncentrácií pri analýze pesticídov.

#### Inštrumentácia a chromatografické podmienky

Na analýzu karbamátových pesticídov veľmi rýchlou a ultrarýchlou GC boli použité kolóny s veľkým vnútorným priemerom (0,53 mm) – megabore capillary columns s dĺžkou

3 m pre veľmi rýchlu analýzu, alebo 0,5 m pre ultrarýchlu analýzu<sup>9,38</sup>. V ostatných prípadoch boli použité kolóny s menším vnútorným priemerom (narrow bore capillary columns)<sup>23,40,42,43</sup>. Pri analýze modelovej zmesi 10 pesticídov a analýze vzorky pôdy obsahujúcej tri pesticídy sa pracovalo s kolónami s vnútorným priemerom len 0,05 mm.

Vo väčšine prípadov sa ako nosný plyn používa hélium. Časy analýz boli najnižšie pri krátkych kolónach a vysokých prietokoch nosného plynu, napríklad ultrarýchla analýza v 50-centimetrovej kolóne s vnútorným priemerom 0,53 mm pri prietoku hélia 240 ml.min<sup>-1</sup> trvala menej ako 5 sekúnd<sup>38</sup>. Týmto spôsobom mohli byť však analyzované len jednoduché zmesi. Pre komplexnejšie zmesi bola použitá rýchla GC, a teda aj kolóny s menšími priermi.

Analyty boli detegované hmotnostným spektrometrom s ionizáciou v supersonickom molekulovom lúči (SMB-MS) (cit.<sup>9,38</sup>), plameňovo-ionizačným detektorom (FID) (cit.<sup>40</sup>), detektorom elektrónového záchytu (ECD), ECD s pulzným výbojom<sup>42,43</sup> a prvkovo-selektívnym rádiofrekvenčným plazmovým detektorom (RPD) (cit.<sup>23</sup>). Medza detekcie pri použití ECD pre hexachlórbenzén a dieldrín bola 0,1 pg (minimálna detegovateľná koncentrácia 0,2 ppb). Pre úspešné spojenie kapilárnej kolóny (vnútorný priemer 0,05 mm) s ECD boli potrebné vysoké prietoky prídavného plynu do detektora kvôli veľkému objemu detekčnej cely. Týmto veľkými prietokmi autori dokázali minimalizovať chvostovanie píkov a dosiahnúť dobrú citlivosť detekcie<sup>42</sup>. Medza detekcie pri použití ECD s pulzným výbojom pre organochlórované pesticídy vo vode bola 10 ng.l<sup>-1</sup>. Tento detektor poskytoval citlivé a selektívne meranie<sup>45</sup>. RPD je prvkovo-selektívny detektor, selektívny na síru a chlór. Jeho selektivita a citlivosť závisí od prietoku nosného plynu (CO<sub>2</sub>) a plazma-reagenčného plynu (O<sub>2</sub>). Vplyvy prietokov týchto plynov na selektivitu a citlivosť boli študované a z výsledkov skúmania sa zistili optimálne pracovné podmienky. Medza detekcie RPD detektora pre chlór bola 24,8 pg.s<sup>-1</sup> a pre síru 9,2 pg.s<sup>-1</sup> (cit.<sup>23</sup>).

Detailné údaje o kolónach, nosnom plyne, čase analýzy, teplotných režimoch, detektoroch a inštrumentácii pri analýze pesticídov sú uvedené v tabuľke IV.

### 2.2.3. Vyššie vrúce uhľovodíky, polychlórované bifenyly a iné semiprchavé látky

#### Vzorky – typy, úprava a dávkovanie

V tejto kapitole sa sústreďme na analýzu vyššie vrúcich uhľovodíkov, predovšetkým alkánov s počtom uhlíkových atómov vyšším ako 10 (cit.<sup>17,35,40,44,45</sup>), polyaromatických uhľovodíkov (PAH) (cit.<sup>40,46</sup>) a polychlórovaných bifenylov (PCB) (cit.<sup>42,46–48</sup>). Rýchla plynová chromatografia našla uplatnenie aj pri analýze esenciálnych olejov<sup>48,49</sup>, oligomérov<sup>44</sup>, mastných kyselín<sup>44</sup> a butylcínových zlúčenín<sup>50</sup>.

Vzorky obsahujúce semiprchavé látky sú väčšinou upravované riedením do vhodného rozpúšťadla, ako je hexán a cyklohexán, alebo extrakciou, ak sa látky nachádzajú v zložitej matrici, ako sú sedimenty alebo oleje.

Najčastejšie používanými dávkovacími technikami sú „split“ a „splitless“. Výhodou „split“ dávkovania je, že dávkovaním malých množstiev 0,2–1 µl v kombinácii s veľkými „splitovacími“ pomermi (1:500 až 1:1200) možno dávkovať vzorku bez akejkoľvek úpravy, napríklad oleje<sup>46,48</sup>.

Použitie „nesplitovacích“ techník dávkovania (horúci „splitless“, studený „splitless“ a „on-column“ dávkovanie) pri stopovej analýze v kombinácii s „narrow-bore“ kolónou boli detailne diskutované<sup>16</sup> spolu s aplikáciami na analýzu vzoriek zmesi *n*-alkánov so širokým rozpätím teplôt varu *n*-C8–*n*-C36, citrusového oleja a dieselového oleja rozpusteného v hexáne. Spojenie kolóny pre rýchlu GC s „normal-bore“ (0,32 mm) predkolónou umožňuje dávkovať objemy 1–5 µl technikou „on-column“ (cit.<sup>17</sup>). Dávkovanie „on-column“ je vhodné aj pri analýze simulovanej destilácii, nakoľko výsledky nie sú zaťažené diskrimináciou a možno ich použiť na kvantitatívnu analýzu<sup>51</sup>. Výhodou dávkovania vzorky do studeného injektora PTV s následným splynením vzorky veľmi rýchlym ohrevom v porovnaní s klasickým „splitless“ dávkovaním je predovšetkým odstránenie diskriminácie látok a minimálne chvostovanie PAH (cit.<sup>52</sup>).

Vývoj rýchlej plynovej chromatografie dáva možnosti urýchliť separačný proces, a tým aj výrazne znížiť čas a náklady aj pre metódy spájajúce GC s inými technikami, napríklad s pyrolýzou<sup>53,54</sup>. Pri analýze styren-butylakrylátových kopolymérov, vinylchlorid-vinylidénchloridových kopolymérov a akrylonitril-butadién-styrénových terpolymérov metódou pyrolýza – rýchla GC sa experimenty zredukovali na čas kratší ako 5 min, čo predstavuje viac ako 10-násobné zníženie času analýzy v porovnaní s konvenčnou GC.

#### Inštrumentácia a chromatografické podmienky

Jedna z možných ciest, ako urýchliť chromatografickú analýzu, je použitie vysokého teplotného nárastu pri programovaní teploty za použitia odporových vyhrievacích techník<sup>44,45</sup>. Pri tejto technike programovania teploty autori použili gradienty do 20 °C.s<sup>-1</sup>, pričom relatívnu smerodajnú odchýlku retenčných časov dosiahli menšiu ako 0,2 % (cit.<sup>44</sup>). V práci van Lieshout a kol.<sup>55</sup> boli hodnotené rôzne prístupy k zrýchleniu GC separácií, a to: 1. použitie „narrow-bore“ kolón za konvenčných GC podmienok, 2. použitie „narrow-bore“ kolón za podmienok typických pre rýchlu GC (najmä použitie vysokých teplotných gradientov pre vyhrievanie chromatografickej pece), 3. odporové vyhrievanie s možnosťou teplotného gradientu až do 100 °C.s<sup>-1</sup>. Z porovnania vyplýva, že nahradením 320 alebo 250 µm kolóny kolónou s priemerom 50 µm sa zredukuje čas analýzy približne 3×; ak sa navyše zrýchli aj teplotný gradient vyhrievania pece, dosiahli v práci faktor zrýchlenia 10. Použitie odporového vyhrievania kolóny je vhodné najmä pre skríningové aplikácie a nie príliš zložité zmesi.

Meraním aktuálnej teploty v peci počas analýzy sa zistilo, že skutočná teplota sa pri teplote vyššej ako 250 °C odchyľuje od naprogramovanej. Po redukcii priestoru chromatografickej pece na 50 % vložení „vankúša“ do pece neboli pozorované odchýlky teploty<sup>38</sup>.

Zaujímavým prístupom, ako zrýchliť analýzu a súčasne zachovať požadovanú medzu detekcie, je použitie multikapiláry<sup>50</sup> na analýzu butylcínových zlúčenín v referenčnom sedimente.

Najčastejšie používanými detektormi pri analýze semiprchavých látok v závislosti od typu stanovovanej látky sú FID a µ-ECD, zriedkavejšie je použitie MS. Pri použití FID sa testovali vzorkovacie frekvencie 5 a 50 Hz, z opakovateľnosti určenia retenčných časov a plôch vyplýva nevyhnutnosť po-

užitia rýchlej elektroniky pre rýchlu GC (cit. 48). Pri testovaní rýchlej GC v kombinácii s hmotnostným spektrometrom s rýchloscanujúcim „double focusing“ magnetickým sektorom<sup>46</sup> sa ukázalo, že vo „full scan“ móde je možné dosiahnuť až 20 scanov.s<sup>-1</sup> a medze detekcie pri analýze PCB sa pohybovali v nízkej pikogramovej oblasti a pri SIM móde sa vylepšili na 5–50 fg.

Aplikácie rýchlej GC na analýzu semiprchavých látok s prehľadom stanovovaných analytov, vzoriek, spôsobov dávkovania a použitej inštrumentácie sú zhrnuté v tabuľke V.

### 3. Záver

Článok poskytuje prehľad o najnovších trendoch v aplikáciách rýchlej plynovej chromatografie na analýzu prchavých a semiprchavých organických látok. V jednotlivých kapitolách je podľa typu stanovovaných analytov uvedený prehľad najčastejšie analyzovaných vzoriek a matric, spôsobov dávkovania, experimentálnych podmienok a použitej inštrumentácie. Takisto je uvedený prehľad dosiahnutých časov GC analýz a medzí detekcie podľa použitého detekčného systému.

Z množstva aplikácií, najmä v posledných rokoch, vyplýva, že v dôsledku neustáleho vývoja a skvalitňovania inštrumentácie sa možnosti využitia rýchlej chromatografie rozširujú a rýchla GC je vyhľadávanou metódou pre aplikácie najmä pri monitorovacích analýzach a pri rutinných analýzach predovšetkým z ekonomických dôvodov.

*Autori ďakujú Vedeckej agentúre MŠ SR za finančnú podporu projektu č. 1/9126/02, ktorého súčasťou je táto publikácia.*

### LITERATÚRA

- Golay M. J. E.: *Gas Chromatography 1957*, str. 1. Academic Press, New York 1958.
- Schutjes C. P. M., Vermeer E. A., Rijks J. A., Cramers C. A.: *J. Chromatogr.* 253, 1 (1982).
- MacDonald S. J., Wheeler D.: *Int. Lab. News*, October 1998, 13C.
- Russo M. V.: *Chromatographia* 41, 419 (1995).
- Cramers C. A., Scherpenzeel G. J., Leclercq P. A.: *J. Chromatogr.* 203, 207 (1981).
- Fuller E. N., Schettler P. D., Giddings J. C.: *Ind. Eng. Chem.* 58, 19 (1966).
- Blumberg L. M.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 20, 597 (1997).
- Leclercq P. A.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 15, 531 (1992).
- Dagan S., Amirav A.: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 7, 737 (1996).
- Van Deursen M. M., Beens J., Janssen H.-G., Leclercq P. A., Cramers C. A.: *J. Chromatogr.* 878, 205 (2000).
- Korytár P., Matisová E.: *Chem. Listy* 95, 470 (2001).
- Korytár P., Matisová E.: *Chem. Listy* 95, 783 (2001).
- Tong D., Barnes A. M., Bartle K. D., Clifford A. A.: *J. Microcolumn. Sep.* 8, 353 (1996).
- Liu Z., Phillips J. B.: *J. Microcolumn. Sep.* 1, 249 (1989).
- Van Es A.: *High Speed Narrow Bore Capillary Gas Chromatography*. Hüthig, Heidelberg 1992.
- Van Ysacker P. G., Snijders H. M., Janssen H. G. M., Cramers C. A.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 21, 491 (1998).
- Korytár P., Matisová E., Lefflerová H., Slobodník J.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 23, 149 (2000).
- Klee M. S., Williams M. D., Chang I., Murphy J.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 22, 24 (1999).
- Phillips J. B., Liu Z., Venkatramani C. J., Jain V.: *13<sup>th</sup> Int. Symposium on Capillary Chromatography, Riva del Garda*. Hüthig, Heidelberg 2000.
- Wang S., Stuart J. D., He H., Levine S. P.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 14, 757 (1991).
- Górecki T., Pawliszyn J.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 18, 161 (1995).
- Górecki T., Pawliszyn J.: *Anal. Chem.* 67, 3265 (1995).
- Davoli E., Cappellini L., Moggi M., Fanelli R.: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 5, 1001 (1994).
- Akard M., Sacks R. D.: *J. Chromatogr. Sci.* 32, 499 (1994).
- Klemp M. A., Akard M. L., Sacks R. D.: *Anal. Chem.* 65, 2516 (1993).
- Klemp M. A., Peters A., Sacks R. D.: *Environ. Sci. Technol.* 28, 369A (1994).
- Chen T. K., Phillips J. G., Durr W.: *J. Chromatogr., A* 811, 145 (1998).
- David F.: *23<sup>rd</sup> Int. Symposium on Capillary Chromatography, Riva del Garda*, str. E06. Hüthig, Heidelberg 2000.
- Lavine B. K., Mayfield H., Kromann P. R., Farugue A.: *Anal. Chem.* 65, 2516 (1993).
- Wentworth W. E., Cai H., Stearns S.: *J. Chromatogr., A* 688, 135 (1994).
- Li W. C., Andrews A. R. J.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 19, 492 (1996).
- Jain V., Phillips J. B.: *J. Chromatogr. Sci.* 33, 601 (1995).
- Jain V., Phillips J. B.: *J. Chromatogr. Sci.* 33, 55 (1995).
- Magni P., Munari F.: *23<sup>rd</sup> Int. Symposium on Capillary Chromatography, Riva del Garda*, str. E03. Hüthig, Heidelberg 2000.
- Wu N., Medina J. C., Lee M. L.: *J. Chromatogr.* 892, 3 (2000).
- McQuaid J. B., Lewis A. C., Bartle K. D., Pilling M. J.: *23<sup>rd</sup> Int. Symposium on Capillary Chromatography, Riva del Garda*, str. A26. Hüthig, Heidelberg 2000.
- Amirav A., Dagan S.: *Int. Lab.* 3, 17A (1996).
- Shahar T., Dagan S., Amirav A.: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 9, 628 (1998).
- Feyerherm F., Prest H.: *Eur. Clin. Lab.* 19, 8 (2000).
- Dalluge J., Ou Aissa R., Vreuls J. J., Brinkman U. A. T., Veraart J. R.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 22, 459 (1999).
- Hajšlová J., Alterová K., Kocourek V.: *23<sup>rd</sup> Int. Symposium on Capillary Chromatography, Riva del Garda*, str. E05. Hüthig, Heidelberg 2000.
- Van Ysacker R. G., Janssen H. G., Snijders H. M. J., Cramers C. A.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 18, 397 (1995).
- Jackson G. P., Andrews A. R. J.: *Analyst* 123, 1085 (1998).
- Van Deursen M., Beens J., Cramers C. A., Janssen H. G.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 22, 509 (1999).
- Ehrmann E. U., Dharmasena, Carney K., Overton E. B.: *J. Chromatogr. Sci.* 34, 533 (1996).

46. Van Ysacker P. G., Brown J., Janssen H. G., Leclercq P. A., Phillips A.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 18, 517 (1995).
47. Alvarado J. S., Silzer J., Lemley F., Erickson M. D.: *Anal. Commun.* 34, 381 (1997).
48. David F., Gere D. R., Scanlan F., Sandra P.: *J. Chromatogr., A* 842, 309 (1999).
49. Mondello L., Zappia G., Dugo P., Dugo G., Bonaccorsi I., Dugo G.: *23<sup>rd</sup> Int. Symposium on Capillary Chromatography, Riva del Garda*, str. I13. Hüthig, Heidelberg 2000.
50. Schmitt V. O., Pereiro I. R., Lobiński R.: *Anal. Commun.* 34, 141 (1997).
51. Mapelli G., Facchetti R., Colombo P. A., Trestinau S.: *23<sup>rd</sup> Int. Symposium on Capillary Chromatography, Riva del Garda*, str. K10. Hüthig, Heidelberg 2000.
52. Lu L., Bukowski N., Magni P., Munari F.: *23<sup>rd</sup> Int. Symposium on Capillary Chromatography, Riva del Garda*, str. I20. Hüthig Verlag, Heidelberg 2000.
53. Wang F. Ch., Burleson A. D.: *J. Chromatogr., A* 833, 111 (1999).
54. Tienpont B., Sandra P., David F.: *23<sup>rd</sup> Int. Symposium on Capillary Chromatography, Riva del Garda*, str. E08. Hüthig, Heidelberg 2000.
55. Van Lieshout M., Derks R., Janssen H. G., Cramers C. A.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 21, 583 (1998).

**S. Hrouzková, M. Šimeková, E. Matisová, and P. Korytár** (*Department of Analytical Chemistry, Faculty of Chemical Technology, Slovak University of Technology, Bratislava, Slovak Republic*): **Present Trends in Analysis of Mixtures of Organic Compounds by Fast Gas Chromatography**

A survey of fast GC applications to analysis of volatile and semivolatile compounds is presented. The most frequently analysed samples, sample introduction modes, experimental conditions and instrumentation are discussed in detail. The analysis times and detection limits are summarised.



# KATALYZÁTORY PRO KONVERZI SYNTÉZNIHO PLYNU

JAROSLAV OBERMAJER<sup>a</sup> a BOHUMÍR DVOŘÁK<sup>b</sup>

<sup>a</sup>DEZA a.s., Odbor výzkumu a technického rozvoje, 757 28 Valašské Meziříčí, <sup>b</sup>Ústav organické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6 e-mail: bohumir.dvorak@vscht.cz

Došlo dne 13.IX.2001

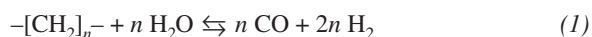
Klíčová slova: nízkoteplotní konverze synplynu, katalyzátor CuO–ZnO–Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, promoce uhlíkaty alkalických kovů

## Obsah

1. Úvod
2. Typy katalyzátorů pro konverzi syntézního plynu a jejich složení
  - 2.1. Příprava katalyzátorů na bázi mědi a jejich fázové složení
    - 2.1.1. Faktory ovlivňující vlastnosti katalyzátorů připravovaných srážecím postupem
    - 2.1.2. Fázové složení prekurzorů katalyzátoru na bázi Cu, Zn a Al
    - 2.1.3. Fázové složení kalcinovaných katalyzátorů
  - 2.2. Vliv alkalických kovů na aktivitu katalyzátorů pro nízkoteplotní konverzi syntézního plynu
3. Závěr

## 1. Úvod

Pro soudobou průmyslovou chemii je vodík jednou z nejdůležitějších chemikálií a jako surovina patří mezi kandidáty na zdroj čisté energie. Základem velkokapacitní průmyslové výroby vodíku jsou technologie parního reformingu zemního plynu, nebo parciální oxidace ropného vakuového zbytku. Podstatou zmíněných technologií je rovnovážná, silně endotermická redukce vody uhlíkatou surovinou.



Ze získané plynné směsi CO + H<sub>2</sub>, nazývané syntézní plyn (synplyn), je oxid uhelnatý selektivně konvertován reakcí s vodou na rovnovážnou směs reaktantů, z níž lze snadno separovat vodík



Tato slabě exotermická reakce vystihuje podstatu procesu, který je nazýván konverze syntézního plynu. Technologicky je uvedený proces zpravidla realizován ve dvou stupních s vloženou absorpcí oxidu uhličitého. V prvním, tzv. vysokoteplotním stupni, je užíván vůči sirným nečistotám odolnější,

ale méně aktivní železochromitý katalyzátor. Ve druhém, nízkoteplotním stupni, umožňuje aplikace vysoce aktivního měděného katalyzátoru práci při výrazně nižší teplotě (180–200 °C), při níž lze dosáhnout rovnovážné koncentrace oxidu uhelnatého 0,2–0,3 obj.%. Měděné katalyzátory pro popisovaný proces se nejen svými vlastnostmi, ale ani složením, neliší od katalyzátorů užívaných v syntéze methanolu. Jsou vyráběny v masovém měřítku a mezi jejich producenty patří přední evropské výrobce katalyzátorů, např. ICI, BASF AG a Haldor Topsøe A/S. Katalyzátor pro nízkoteplotní konverzi syntézního plynu nedávno uvedl do výroby pod obchodním označením CHEROX 49-00 také Chemopetrol Litvínov.

Cílem přehledného článku je shrnutí literárních poznatků o katalyzátorech pro tento proces, způsobech přípravy těchto katalyzátorů a faktorech ovlivňujících jejich užité vlastnosti.

## 2. Typy katalyzátorů pro konverzi syntézního plynu a jejich složení

Pro nízkoteplotní konverzi synplynu jsou užívány jak homogenní, tak i heterogenní katalyzátory. Přehled známých a v literatuře popsaných homogenních katalyzátorů, jejichž uplatnění v průmyslové praxi je výrazně menší, podávají Basińska a Domka<sup>1</sup>. Rozšířenější heterogenní katalyzátory lze rozdělit podle složení (tab. I), častější je ale jejich dělení do tří skupin podle teploty, při které jsou aplikovány. Jde o katalyzátory pro vysokoteplotní (účinné až při 400 °C), středněteplotní (aktivní od 350 °C) a nízkoteplotní procesy, kde jsou technicky využitelné již teploty od 180 °C.

### Tabulka I

Přehled heterogenních katalyzátorů pro konverzi syntézního plynu

Katalyzátor	Složení	Lit.
A – katalyzátory na bázi železa	Fe/Cr – Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> max. 14 hm.% – CoO, NiO nebo Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> + MgO – CuO	2
B – katalyzátory na bázi mědi	viz tabulka II	
C – katalyzátory na bázi Co/Mo	Mo/Mg Mo/Co/Ni Mo/Co/Ni – sulfidy Co/Mo/Ni + alk. kov Co/Mo	3-7
D – platinové katalyzátory	Pt + TiO <sub>2</sub>	8
E – zeolity	– mordenit + Cu <sup>2+</sup> nebo Zn, Ni, Cd, Co – faujasit + Ir(NH <sub>3</sub> ) <sub>6</sub> <sup>2+</sup> – X a Y typy + Ru(NH <sub>3</sub> ) <sub>6</sub> Cl <sub>3</sub>	9-12

Z údajů v tabulce I je zřejmé, že pro konverzi oxidu uhelnatého vodní parou byly zkoumány katalytické vlastnosti téměř všech přechodných kovů. Prakticky je však ve vysokoteplotním procesu používán hlavně oxidem chromitým promotovaný oxid železa, který je aktivní při teplotách nad 400 °C, a v nízkoteplotním procesu katalyzátor na bázi mědi, aktivní již při teplotách 180 °C.

Z rovnice (2) je zřejmé, že konverze CO je vratná reakce. V souladu s Le Chatellierovým principem hodnota rovnovážné konstanty pro exotermní reakce s klesající reakční teplotou roste, což je důsledek posunu rovnovážného složení reakční směsi z konverze synplynu ve prospěch produktů CO<sub>2</sub> a H<sub>2</sub>. Z uvedeného plyne, že s rostoucí hodnotou rovnovážné konstanty roste efektivnost žádané přeměny. Rovnici popisující závislost rovnovážné konstanty na teplotě uvádějí shodně ve svých pracích Basińska s Domkou<sup>1</sup> a Newsome<sup>13</sup> ve tvaru (3):

$$K_p = \exp \left[ \left( \frac{4577,8}{T} \right) - 4,33 \right] \quad (3)$$

Pracovní teplota, která by zajišťovala technicky ušnosnou reakční rychlost, je však určována aktivitou katalyzátoru. Při užití katalyzátoru na bázi železa a chromu je to teplota kolem 400 °C, ta však není pro chemickou rovnováhu příznivá. Vysoká aktivita a selektivita katalyzátorů na bázi mědi je pro konverzi oxidu uhelnatého vodní parou známa poměrně dlouho. Aktivita srovnatelná s katalyzátory železochromitými dosahují měděné katalyzátory již při teplotách 180 °C. Rozšíření měděných katalyzátorů však bránila jejich relativně malá tepelná stabilita a hlavně vysoká citlivost vůči katalytickým jedům. Těmito dvěma faktory, které významně ovlivňují průběh deaktivace katalyzátoru, se zabýval Campbell<sup>14</sup>. V citované práci uvádí, že u měděných katalyzátorů aplikovaných při pracovní teplotě v rozmezí 200–250 °C prakticky nedochází k sintraci. Hlavní příčinou jejich deaktivace jsou podle Campbella katalytické jedy, zejména sloučeniny síry a chloru. Poznanky o účinku katalytických jedů a vlivu teplotou vyvolané sintrace aktivní složky na aktivitu nízkoteplotního konverzního katalyzátoru shrnuje ve svém přehledném článku Amadeo a Laborde<sup>15</sup>. Ti uvádějí shodně se závěry prezentovanými Campbellem<sup>14</sup>, že síra je slabší katalytický jed než chlor, poněvadž katalyzátor pro nízkoteplotní konverzi může adsorbovat větší množství síry než chloru, aniž by došlo k výraznějšímu snížení jeho katalytické aktivity. Protože syntézní plyny jsou však častěji kontaminovány sirnými nečistotami než chlorem, je otrava sirnými sloučeninami frekventovanější. Ekonomika procesu je však kritériem určujícím preferenci katalyzátorů na bázi mědi, a proto je odsíření reaktantů věnována náležitá pozornost. Pouze v procesech s vysokým obsahem síry v uhlíkaté surovině (ropné vakuové zbytky) je konverze, katalyzovaná efektivnějším měděným katalyzátorem, předřazen vysokoteplotnímu stupni s katalyzátorem železochromitým.

Měděné katalyzátory pro nízkoteplotní konverzi syntézního plynu lze z hlediska jejich složení rozdělit na dvoj-, tří- a čtyřsložkové systémy (tab. II).

V práci Newsomea<sup>13</sup> se uvádí, že ani jeden ze samostatně aplikovaných oxidů Cu, Zn a Al není pro konverzi oxidu uhelnatého vhodným katalyzátorem, avšak jejich směsi vykazují pro nízkoteplotní konverzi vysokou aktivitu. Porta a spol.<sup>16</sup> ve

Tabulka II  
Typy katalyzátorů na bázi mědi nejčastěji užívaných pro nízkoteplotní konverzi syntézního plynu

Typ katalyzátoru	Složení
Dvojsložkový	Cu/Zn; Cu/Cr; Cu/Al; Cu/Mg; Cu/Mn; Cu/Si
Třísložkový	Cu/Zn/Al; Cu/Zn/Cr
Čtyřsložkový	Cu/Zn/Al/Cr

své práci uvádějí, že nehlédě na řadu let a vysokou četnost aplikace nízkoteplotních konverzních katalyzátorů v průmyslové výrobě, jsou názory a požadavky na jejich vlastnosti stále zpřesňovány a diskutovány.

Významně jsou sledovány především:

- vliv podmínek přípravy na texturní a katalytické vlastnosti katalyzátoru,
- charakterizace a identifikace aktivních center,
- úloha oxidu zinečnatého a oxidu hlinitého v katalytickém procesu,
- podíl měděné složky na celkovém specifickém povrchu katalyzátoru.

Obsah oxidu měďnatého v katalyzátorech pro nízkoteplotní konverzi syntézního plynu se pohybuje v širokém rozmezí 20–60 hm.%. Nejen z literatury, ale především z obsahu mědi v aktuální nabídce komerčních katalyzátorů však vyplývá, že došlo k přehodnocení názorů s výsledkem jednoznačné preference katalyzátorů s vyšším obsahem účinné složky, 50–60 hm.% CuO. Vzhledem k tomu, že oxid měďnatý je prakticky vždy aplikován s oxidem zinečnatým, vedla tato skutečnost k hypotéze, podle níž je účinnost měděné složky podmíněna přítomností oxidu zinečnatého. Campbell<sup>14</sup> však tuto domněnku vyvrací na základě zjištění, že aktivita katalyzátorů je pouze funkcí velikosti povrchu jejich měděné složky. Jedinou aktivní složkou katalyzátoru je proto podle Campbella kovová měď. Přesto, že funkce kovové mědi jako aktivního centra je všeobecně uznávána, existuje řada kontroverzních názorů na okoli centra a proměnný oxidační stav mědi během reakce. Podle Hermana a spol.<sup>17</sup> hrají v aktivaci reaktantů významnou roli částice Cu<sup>+</sup> izolované ve formě tuhého roztoku na povrchu ZnO, zatímco podle názorů jiných badatelů<sup>18,19</sup> je stejný typ částic lokalizován na povrchu částic kovové mědi. Názorů i důkazů ve prospěch aktivní účasti ZnO při formování aktivních center přibývá, je však pravda, že příslušné závěry jsou formulovány především pro aplikaci katalyzátoru v syntéze methanolu. Je popisován synergický efekt mezi mědí a oxidem zinečnatým<sup>20–23</sup>, funkce aktivního centra<sup>24,25</sup> a jeho povaha<sup>26</sup>. Kanai a spol.<sup>23</sup> a Nakamura a spol.<sup>24</sup> podali na základě výsledků analýz XRD a TEM-EDX výklad vzniku center typu ZnO<sub>x</sub>. Vzniklé útvary ZnO<sub>x</sub> migrují při teplotách 300–450 °C na povrch mědi, kde se částečně rozpouštějí za tvorby neaktivní Cu–Zn slitiny a současně vytvářejí na povrchu kovové mědi struktury Cu<sup>+</sup>–O–Zn.

Vzhledem k tomu, že čistá kovová měď podléhá sintraci již při déle trvajícím působení teplot nad 350 °C, je nutné, aby katalyzátor obsahoval nosič nebo strukturální promotory, tedy složky, které zvyšují jeho teplotní stabilitu a mohou přispívat k prodloužení jeho životnosti. Přestože byla vyzkoušena řa-



da různých materiálů, přítomnost složek oxidu zinečnatého a zvláště oxidu hlinitého vedla k přípravě katalyzátorů s nejlepšími vlastnostmi.

Ke stabilizaci textury a mechanických vlastností jsou nejčastěji užívány sloučeniny hliníku. Obsah oxidu hlinitého se v katalyzátoru pohybuje v rozmezí 1–20 hm.%. Podle Shiskova a spol.<sup>27</sup> má přídavek oxidu hlinitého vliv na zvýšení disperzity mědi, což je dáno tvorbou tuhého roztoku  $\text{Cu}^{2+}$  v oxidu zinečnatém nebo tvorbou klastrů Cu–Al na povrchu oxidu zinečnatého. Vlivem přídavku různých kovových oxidů na aktivitu a tepelnou stabilitu katalyzátoru typu Cu/Zn/Cr se ve svých pracích zabývali Putanov a spol.<sup>28–30</sup>. Zjistili, že přídavek oxidu manganatého má za následek zlepšení aktivity a současně tepelné stability katalyzátoru, a že ani po jeho ohřevu na 350–400 °C nedošlo k sintraci mědi. Tento názor je nutné korigovat s ohledem na novější poznatky o aktivaci nesnadno redukovatelných oxidů Zn a Cr pro rozklad  $\text{N}_2\text{O}$ , který je užíván pro hodnocení stability disperze mědi.

### 2.1. Příprava katalyzátorů na bázi mědi a jejich fázové složení

Způsob a podmínky přípravy katalyzátorů ovlivňují jejich katalytické vlastnosti. Je nutné konstatovat, že údaje publikované o přípravě katalyzátorů jsou jen zřídka podrobnější a vyčerpávající. Firmy, které katalyzátory vyrábějí, se snaží chránit informace o přesném složení katalyzátoru, ale především o způsobech a podmínkách jeho přípravy. Z patentů lze nejčastěji získat jen základní informace. Podrobnější informace jsou dostupné jen z literatury, která se zabývá laboratorním studiem přípravy katalyzátorů. Ale ani v této literatuře nejsou vždy k dispozici komplexní informace o přípravě katalyzátorů.

Z řady postupů přípravy katalyzátorů (tab. III), které jsou v literatuře a patentech uváděny a při výrobě katalyzátorů pro nízkoteplotní konverzi syntézního plynu aplikovány, se nejvíce uplatňuje klasický srážecí postup nebo způsob srážení účinných složek na nosič (A). Podstatně méně jsou k výrobě konverzních katalyzátorů užívány postupy s mechanickou homogenizací složek (B) a (C), ostatní postupy nenalezly v průmyslové praxi uplatnění. Oba zmíněné srážecí postupy (A) mají prakticky shodné technologické schéma, které sestává z následujících kroků: příprava srážecích roztoků, srážení a následně zrání katalyzátorové hmoty, filtrace a promývání, kalcinace a tvarování do technologicky využitelné podoby.

#### 2.1.1. Faktory ovlivňující vlastnosti katalyzátorů připravovaných srážecím postupem

Příprava srážecích roztoků a zejména podmínky srážení mají velký vliv na vlastnosti připravovaného katalyzátoru. Mezi parametry, které mohou v procesu srážení významně ovlivnit charakter katalyzátoru, jsou koncentrace aktivních látek ve srážecích roztocích, teplota, způsob a pH srážení.

V naprosté většině případů se při přípravě katalyzátorů pro nízkoteplotní konverzi syntézního plynu vychází z dusičnanů příslušných kovů. V práci Himelfarba a spol.<sup>31</sup> je uvedeno použití acetátů.

Jako srážedla se používají nejčastěji vodné alkalické roztoky. Je popsána aplikace alkalických hydroxidů, amoniaku, uhličitanu amonného a uhličitanu sodného.

### Tabulka III

Přehled základních postupů přípravy prekurzorů citovaných v souvislosti s přípravou nízkoteplotních katalyzátorů pro konverzi syntézního plynu

#### Způsob přípravy prekurzorů

- A – Srážení základních složek nebo srážení na nosič
- B – Kombinace srážení a hnětení
- C – Hnětení a mísení základních složek katalyzátoru
- D – Impregnace nosičů
- E – Hydrotermální reakce
- F – Plazmochemická syntéza

Čerkasov a spol.<sup>32</sup> popisují ve svém patentu způsob přípravy katalyzátorů pro nízkoteplotní konverzi oxidu uhelnatého směsným srážením dusičnanů mědi, zinku a hliníku uhličitánem alkalického kovu. Uvádějí, že takto připravený katalyzátor má nedostatečnou tepelnou stabilitu. Za účelem jejího zvýšení vycházeli při přípravě katalyzátoru ze směsného roztoku dusičnanu hlinitého a kyseliny šfavelové, který byl srážen amonným, amonno-dusičnanovým a amonno-uhličitánovým roztokem mědi a zinku. Tento způsob je podle citovaných autorů výhodný v tom, že nepotřebuje důkladné promývání nerozpustných sloučenin kovů od amonných solí, protože ty se lehce rozkládají při kalcinaci. Další předností takto připravených katalyzátorů, na rozdíl od katalyzátorů srážených uhličitany alkalických kovů, je vysoký stupeň homogenity, vysoká aktivita a stabilita, dobrá reprodukovatelnost přípravy a při promývání katalyzátorové hmoty menší spotřeba vody.

Čerkasov a spol.<sup>33</sup> dále používali jako srážedlo roztok hydroxidu amonného a šfavelanu amonného. Výhodu tohoto srážedla spatřují v tom, že vysrážení všech kovů není závislé na pH prostředí, a že není potřeba důkladného promytí sráženiny. Srážedlo neobsahuje alkalické kovy a koncentrace amonných iontů je podle autorů taková, že nedochází ke tvorbě ve vodě rozpustných amosloučenin mědi a zinku. Autoři patentu připravili popsáním postupem čtyři katalyzátory o různém složení a uvádějí, že jejich aktivita je dvakrát vyšší než aktivita katalyzátoru připravovaného s použitím šfavelové kyseliny.

Shutov a spol.<sup>34</sup> ve svém patentu vycházejí ze směsi mědi, zinku, amoniaku a oxidu uhličitého, která je přehřívána na 60–70 °C. Jako srážedlo byly použity roztoky získané smícháním minerální kyseliny ( $\text{HNO}_3$ ) nebo organické kyseliny ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) s oxidem chromitým, oxidem a hydroxidem hlinitým, oxidem manganatým a oxidem titaničitým. Takto připravené katalyzátory byly porovnány s katalyzátorem, který obsahoval 50,6 hm.% CuO a 49,4 hm.% ZnO. Teplota srážení byla udržována v rozmezí 80–90 °C, pH 6–7 a teplota kalcinace 320–480 °C. Získané katalyzátory měly vyšší aktivitu, specifický povrch a mechanickou pevnost.

Teplota srážení je ve většině případů udávána v rozmezí 20–80 °C. Höppener a spol.<sup>35</sup> připravili dva katalyzátory stejného složení Cu/Zn/Al = (58/24/18 at.%), srážené při různých teplotách (60 a 80 °C). Z výsledků DTA vyplývá, že srážení při vyšší teplotě dává čistější hydrotalcit (tab. IV).

Další z faktorů, které významně ovlivňují vlastnosti srážení, a tím i vlastnosti katalyzátoru, je pH srážení. Z literatury

Tabulka IV  
Přehled jednotlivých fází v prekurzorech katalyzátorů na bázi Cu/Zn/Al pro nízkoteplotní konverzi syntézního plynu

Fáze	Vzorec
Hydrozinkit	$Zn_5(CO_3)_2(OH)_6$
Aurichalcit	$(Cu,Zn)_3(CO_3)_2(OH)_6$
Malachit	$Zn_xCu_{2-x}(OH)_2CO_3$
Gerhartit	$Cu_2NO_3(OH)_3$
Hydrotalcit	$(Cu,Zn)_6Al_2(OH)_{16}CO_3 \cdot 4H_2O$
Rosasit	$(Cu,Zn)_2(OH)_2(CO_3)$
Roderit	dosud neurčen <sup>35</sup>

vyplývá, že srážení může být vedeno při konstantním pH v průběhu celé operace srážení, nebo za proměnného pH. Katalyzátor při proměnném pH srážení připravoval Herman a spol.<sup>17</sup> přidáváním 1 M- $Na_2CO_3$  po kapkách do 1 M roztoku dusičnanů Cu, Zn po dobu 1,5 hodiny. Srážení bylo vedeno z počáteční hodnoty pH 3 do konečné hodnoty 6,8–7,0.

Katalyzátory srážené při konstantním pH jsou připravovány při hodnotách pH v rozmezí 6,0–8,0. Campbell<sup>14</sup> se zabývá vlivem pH srážení na vlastnosti sraženiny. Jestliže je pH srážení nízké, vede to ke vzniku sraženin s částicemi větších rozměrů, a tudíž k nízké počáteční aktivitě a k menší životnosti katalyzátoru. V případě vyšší hodnoty pH srážení vznikají částice menších rozměrů a počáteční aktivita katalyzátoru je velká. Campbell<sup>14</sup> však neuvádí hodnotu pH srážení, při které by aktivita katalyzátoru byla nejvyšší. Ostatní autoři zmiňují pH srážení v rozmezí 6,0–8,0. Campbell<sup>14</sup> se rovněž zabýval otázkou změny hodnoty pH srážení. Jestliže je srážení prováděno z nižší na vyšší hodnotu pH, jsou zinečnaté kationty sráženy později než měďnaté, při postupném snižování hodnoty pH je pořadí obrácené.

Doba zrání sraženiny je v literatuře udávána v rozmezí 30–60 minut při teplotách 80–95 °C. Promývání filtračního koláče, jak ve své práci uvádí Vosolsobě a spol.<sup>36</sup>, je prováděno destilovanou vodou, která má teplotu 80 °C. Promýváním se z katalyzátorové hmoty odstraňují dusičnanové ionty. Francouzský patent<sup>37</sup> uvádí limitní zbytkovou koncentraci dusičnanových iontů < 0,1 hm. %.

Sušení je převážně prováděno v diskontinuálních kabínových sušárnách při teplotách v rozmezí 80–200 °C po dobu 15–24 hodin.

Kalcinace je další z důležitých etap přípravy katalyzátoru. Při ní se mění složité struktury prekurzorů na oxidy CuO, ZnO a  $Al_2O_3$ , jejichž disperzita a morfologie je závislá na složení, přípravě a zpracování původní sraženiny. Teplota kalcinace se pohybuje kolem 350 °C.

Vliv podmínek tepelného zpracování na velikost specifického povrchu katalyzátorů Cu/Zn = (40/60 hm. %) studovali Boháč a Glaser<sup>38</sup>. Zjistili, že korelace mezi dobou kalcinace a hodnotou specifického povrchu katalyzátoru vykazuje maximum. Poloha maxima vzhledem k časové souřadnici je funkcí teploty. Čím vyšší je teplota, tím je maxima dosaženo dříve. Velikost specifického povrchu, která odpovídá dosaženému maximu, však na teplotě nezávisí. Závislost specifického povrchu katalyzátoru na době kalcinace při dané teplotě autoři vysvětlují představou, že prekurzor se při zahřívání

rozkládá a vznikají zárodky oxidů jednotlivých komponent, které mají větší specifický povrch než povrch sraženiny. Při dalším zahřívání však dochází ke zmenšování povrchu v důsledku rekystalizace vzniklých oxidů, a výsledná hodnota specifického povrchu katalyzátoru je tudíž výslednicí těchto dvou protichůdných dějů.

Tento závěr autoři popsali jednotnou korelací mezi velikostí specifického povrchu a stupněm rozkladu prekurzoru. Celkový specifický povrch vzrůstá do stupně rozkladu 0,7–0,8; při dalším rozkladu pak dosti prudce klesá.

Katalyzátory pro nízkoteplotní konverzi syntézního plynu jsou nejčastěji tvarovány do formy tablet o velikosti 3–5 mm.

### 2.1.2. Fázové složení prekurzorů katalyzátoru na bázi Cu, Zn a Al

V prekurzorech tzv. nízkoteplotních katalyzátorů byly identifikovány různé sloučeniny s hydroxyuhličitany anionty, jejichž složení a množství je závislé na způsobu přípravy a obsahu jednotlivých reakčních složek ve srážecích roztocích. Tabulka IV podává přehled všech v literatuře popsanych složek prekurzorů.

Ternární prekurzor Cu/Zn/Al o složení (5/85/10 at. %), který ve své práci studovali Porta a spol.<sup>16</sup>, obsahoval hydrozinkit. Prekurzor o složení (60/30/10 at. %) však obsahoval malachit, což je v dobrém souladu s výsledky získanými stejnými autory při studiu složení prekurzorů v binárních systémech s analogickou koncentrací klíčových složek. Binární katalyzátor o složení (Cu/Zn = 67/33 at. %), připravený<sup>16</sup> v prostředí proměnného pH v rozmezí 4–8, obsahoval hlavně gerhartit a malé množství hydrozinkitu a aurichalcitu. Höppener a spol.<sup>35</sup> pozorovali v binárních prekurzorech Zn/Al o složení 90/10 at. % krystalovou modifikaci, kterou nazvali roderit. Autoři uvádějí, že roderit má neznámou strukturu, ale charakteristické rentgenové spektrum, které je velmi podobné hydrozinkitu.

Höppener a spol.<sup>35</sup> ve své práci uvádějí, že v prekurzorech katalyzátorové hmoty je přítomen hydrotalcit tehdy, jestliže poměr příslušných kationtů leží v rozmezí  $2 < [(Cu^{2+} + Zn^{2+})/Al^{3+}] < 3$ . V ternárních systémech pozorovali také přítomnost roderitu. Podle Bussetta a spol.<sup>39</sup> je v ternárních prekurzorech bezprostředně po srážení přítomna pouze hydrotalcitová fáze, která se promýváním sraženiny rozkládá na stabilní malachitovou fázi. Na základě znalosti hodnot poměru kovových kationtů  $Me^{2+}/Me^{3+}$  v hydrotalcitu je možno konstatovat, že výskyt hydrotalcitové fáze je podmíněn stimulací poměru  $(Cu^{2+} + Zn^{2+})/Al^{3+}$ , jehož velikost by měla být v rozsahu hodnot 2–3.

Ginés a spol.<sup>40</sup> připravili metodou směsného srážení patnáct vzorků katalyzátorů Cu/ZnO/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> o různém chemickém složení. Přítomnost indikovaných krystalických fází v prekurzorech připravených katalyzátorů je zaznamenána v tabulce V převzaté z jejich práce. Jednotlivé katalyzátory připravili ve třech sériích: vzorky první série (B) obsahovaly stejné množství mědi, ale různý atomární poměr Zn/Al; vzorky druhé série (M) měly atomární poměr Cu/Zn roven 1 a různý poměr Zn/Al a vzorky třetí série (T) měly stejné chemické složení (Cu/Zn = 1, (Cu+Zn)/Al = 4), ale byly kalcinovány při různých teplotách. V připravených prekurzorech a následně v kalcinovaných katalyzátorech určili metodou XRD zastoupení krystalických fází a jejich výskyt korelovali s obsahem jednotli-

Tabulka V

Složení a charakteristika prekurzorů katalyzátorů<sup>40</sup>; Au – aurichalcit, Hy – hydrozinkit, Ro – rosasit, HT – hydrotalcit

Vzorek	(Cu+Zn)/Al <sup>a</sup>	Cu/Zn <sup>a</sup>	Al/Zn <sup>a</sup>	Krystalické fáze	S <sub>g</sub> [m <sup>2</sup> .g <sup>-1</sup> ]
B-1	∞	0,7	0	Au, Hy <sup>b</sup>	23
B-2	6,0	0,8	0,3	Au, Ro <sup>b</sup>	29
B-3	4,0	1,0	0,5	HT, Ro, Au <sup>b</sup>	39
B-4	3,0	1,1	0,7	HT	43
B-5	1,2	2,0	2,5	HT, Ro <sup>b</sup>	60
M-1	∞	1,0	0	Au, Hy	14
M-2	6,0	1,0	0,33	Au, Ro <sup>b</sup> , HT <sup>b</sup>	36
M-3	4,0	1,0	0,5	HT, Ro, Au <sup>b</sup>	40
M-4	3,0	1,0	0,67	HT	45
M-5	2,0	1,0	1,0	HT	38
M-6	1,0	1,0	2,0	HT	29
T	4,0	1,0	0,5	Ht, Ro, Au <sup>b</sup>	38

<sup>a</sup> Teoretický atomový poměr, <sup>b</sup> krystalická fáze byla detegována jen ve stopovém množství

vých složek. Ve všech studovaných katalyzátorech dále měřili velikost krystalů CuO a ZnO (*L*), celkový specifický povrch (*S<sub>g</sub>*) a distribuci kovové mědi (*D<sub>Cu</sub>*).

Ve vzorcích série B byl hydrotalcit, jako jediná krystalografická modifikace, pozorován Ginésem a spol.<sup>40</sup> jen u vzorku B-4, u něhož byl atomový poměr (Cu/Zn)/Al roven 3. Tato hodnota atomového poměru odpovídá poměru kovových kationtů M<sup>2+</sup>/M<sup>3+</sup> v hydrotalcitové fázi [(Cu,Zn)<sub>6</sub>Al<sub>2</sub>(OH)<sub>16</sub>CO<sub>3</sub>.4H<sub>2</sub>O]. Výskyt jediné krystalické fáze, odpovídající hydrotalcitu, byl prokázán pouze v prekurzorech tří vzorků série M, ve vzorcích M-4, M-5 a M-6. Disperze mědi v kalcinovaných vzorcích klesala od vzorku M-4 do M-6 (tab. VI). Maximální velikost celkového specifického povrchu (54 m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup>) autoři naměřili v serii M u vzorku M-4. Ginés a spol.<sup>40</sup> také popsali vliv struktury prekurzoru nízkoteplotního konverzního katalyzátoru na katalytickou aktivitu. Nejvyšší aktivitu vykazoval opět vzorek katalyzátoru B-4, jehož prekurzor obsahoval pouze hydrotalcitovou fázi. Vzorek B-1 binárního katalyzátoru (Cu, Zn) měl naopak nejnižší aktivitu.

### 2.1.3. Fázové složení kalcinovaných katalyzátorů

Kalcinací se hydroxysoli, přítomné v prekurzorech, rozkládají na příslušné oxidy. Složení prekurzoru určuje výslednou morfologii katalyzátoru. Ginés a spol.<sup>40</sup> potvrdili závěry Hermana a spol.<sup>17</sup>, Garbassiho a Petriniho<sup>41</sup> a Okamoty a spol.<sup>42</sup> o tom, že velikost částic CuO u binárních katalyzátorů roste s růstem hodnoty poměru Cu/Zn, jak je zřejmé z hodnot *L<sub>CuO</sub>* uvedených v tabulce VI.

Porta a spol.<sup>16</sup> pozorovali v kalcinovaných ternárních prekurzorech Cu/Zn/Al o obsahu 10 at.% Al přítomnost krystalických fází CuO a ZnO. Kalcinací vzorku Cu/Zn/Al o složení 5/30/65 byla získána spinelová fáze Cu<sub>x</sub>Zn<sub>1-x</sub>Al<sub>2</sub>O<sub>4</sub>. Ve vzorcích, obsahujících malé množství Cu jsou po kalcinaci při 350 °C podle Porty a spol.<sup>16</sup> viditelné pouze linie ZnO. Autoři tento fakt vysvětlují tím, že část Cu<sup>2+</sup> je rozpuštěna ve formě tuhého roztoku v hexagonální mřížce ZnO.

Ginés a spol.<sup>40</sup> charakterizovali vlastnosti oxidů kovů vzniklých rozkladem hydroxy-uhlíčanových prekurzorů (tab. V). Vybrané vlastnosti laboratorně připravených vzorků porovnávali se srovnatelnými vlastnostmi tří komerčních katalyzátorů od firem ICI, Girdler a UCI. Ve všech komerčních katalyzátorech pozorovali přítomnost pouze krystalických fází CuO a ZnO. Tyto výsledky jsou v souladu s analýzou XRD vzorků série B a M (tabulka VI) a potvrzují, že spinelová fáze je ve vzorcích pozorována až při obsahu Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> větším než 13 hm. %.

Z údajů v tabulce VI, rovněž převzaté z jejich práce, je vidět, že fázové složení kalcinovaných vzorků příliš nezávisí na chemickém složení prekurzorů těchto katalyzátorů. Velikost krystalů CuO a ZnO je naproti tomu fázovým složením katalytického prekurzoru velmi ovlivňována. Z výsledků jejich práce lze formulovat závěr, že přítomnost hydrotalcitu v prekurzoru vede ke vzniku vyšší disperze směsi krystalů CuO a ZnO ve výsledných vzorcích katalyzátorů. Z údajů v tabulce VI je také zřejmé, že kalcinace prekurzorů při teplotě vyšší než 500 °C je doprovázena vznikem další krystalické fáze ZnAl<sub>2</sub>O<sub>4</sub>. Velikost krystalů CuO roste s kalcinační teplotou, ale významnější nárůst byl pozorován až při teplotě vyšší než 613 °C.

Pozitivní vliv hydrotalcitu na vznik malých krystalů CuO byl popsán již v práci Gherardi a spol.<sup>43</sup>. Autoři jeho vliv interpretují tak, že hydrotalcit obsahuje složky prekurzoru homogenně distribuované uvnitř vrstevnaté struktury, která v průběhu kalcinace omezuje migraci, a tudíž vznik velkých krystalů. Tento závěr lze dobře ilustrovat na vlastnostech oxidických fází ve vzorcích B-1 a M-1 dvojsložkových katalyzátorů. Velikost primárních krystalitů CuO byla v těchto vzorcích největší, tzn., že disperzita jejich měděných částic byla nejmenší (tab. VI).

Z poznatků uvedených v kapitolách 2.1.2. a 2.1.3. vyplývá, že obsah Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> v katalyzátoru pro nízkoteplotní konverzi synplynu je nezbytný i přesto, že zmíněná složka je v uvedené reakci katalyticky neaktivní. Úloha hlinité složky spočívá kromě role nosiče, stabilizujícího disperzi kovové mědi, také v její účasti na formování hydrotalcitové struktury prekurzoru. Tato fáze zajišťuje prostřednictvím homogenní distribuce složek uvnitř vrstevnaté struktury vysokou disperzitu jednotlivých oxidů a vede k přípravě aktivnějších katalyzátorů.

### 2.2. Vliv alkalických kovů na aktivitu katalyzátorů pro nízkoteplotní konverzi syntézního plynu

Ačkoli je známo, že alkalické kovy často výrazně ovlivňují aktivitu, zejména však selektivitu heterogenních katalyzátorů pro různé průmyslově významné procesy<sup>44</sup>, množství prací zabývajících se studiem vlivu alkalických kovů na katalytické a fyzikální vlastnosti nízkoteplotních konverzních katalyzátorů je velmi omezené.

Vlivu iontů Na<sup>+</sup> a K<sup>+</sup> na aktivitu nízkoteplotních konverzních katalyzátorů a na některé jejich fyzikálně-chemické vlastnosti je obsahem prací Suchoručkiny a Semenové<sup>45,46</sup>. Z nich především vyplynulo, že obsah alkalických iontů Na<sup>+</sup> a K<sup>+</sup> v množství do 1,5 hm. %, nemá na katalytickou aktivitu prakticky žádný vliv. Následnou tepelnou úpravou vzorků těchto katalyzátorů však došlo ke zvýšení jejich katalytické aktivity, přičemž výraznější vliv na aktivitu byl zaznamenán

Tabulka VI

Vlastnosti jednotlivých oxidů v kalcinovaných vzorcích dvoj- a trojsložkových katalyzátorů<sup>43</sup>

Vzorek	Cu/Zn/Al [hm.% M <sub>x</sub> O <sub>y</sub> ]			XRD	Velikost krystalů <sup>a</sup>		S <sub>g</sub> [m <sup>2</sup> ·g <sup>-1</sup> ]	D <sub>Cu</sub> [%]
	L <sub>CuO</sub>	L <sub>ZnO</sub>	L <sub>ZnAl<sub>2</sub>O<sub>4</sub></sub>					
B-1	42,7	57,1	0,0	CuO, ZnO	21,0	23,5	5	0,7
B-2	42,3	51,2	6,5	CuO, ZnO	17,0	11,8	41	2,5
B-3	42,5	43,9	13,9	CuO, ZnO, ZnAl <sub>2</sub> O <sub>4</sub> <sup>b</sup>	13,0	9,6	52	3,1
B-4	42,7	39,0	18,3	CuO, ZnO, ZnAl <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	8,0	7,0	55	4,8
B-5	42,2	22,3	35,5	CuO, ZnO, ZnAl <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	14,5	8,0	50	3,6
M-1	49,3	50,1	0,0	CuO, ZnO	25,0	20,3	4	0,5
M-2	44,7	45,7	9,6	CuO, ZnO	15,3	16,1	33	2,3
M-3	42,7	43,6	13,7	CuO, ZnO, ZnAl <sub>2</sub> O <sub>4</sub> <sup>b</sup>	13,0	9,5	51	3,1
M-4	40,8	41,7	17,5	CuO, ZnO, ZnAl <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	7,9	7,3	54	4,6
M-5	37,6	38,4	24,0	CuO, ZnO, ZnAl <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	8,4	8,0	38	3,0
M-6	30,3	31,0	38,7	CuO, ZnO, ZnAl <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	8,7	10,1	34	2,8
T-673	42,6	43,7	13,7	CuO, ZnO	6,0	5,0	65	3,6
T-773	42,6	43,7	13,7	CuO, ZnO	8,0	5,1	64	3,5
T-873	42,6	43,7	13,7	CuO, ZnO, ZnAl <sub>2</sub> O <sub>4</sub> <sup>b</sup>	11,0	7,5	54	3,1
T-973	42,6	43,7	13,7	CuO, ZnO, ZnAl <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	21,0	16,5	18	0,9
COM-1	42,1	51,6	6,3	CuO, ZnO	8,0	5,0	42	5,0
COM-2	42,7	46,4	10,9	CuO, ZnO	14,0	13,2	45	4,0
COM-3	42,4	48,5	9,1	CuO, ZnO	12,0	12,7	55	3,1

<sup>a</sup> Uvedeno v nm, <sup>b</sup> krystalická fáze byla detegována jen ve stopovém množství

u vzorku katalyzátoru modifikovaného draselným iontem. Vzorky s obsahem alkalického iontu vyšším než 1,5 hm.% Me<sub>2</sub>O vykázaly několikanásobné snížení katalytické aktivity. V další práci<sup>47</sup> autorky zjistily, že negativní vliv kyselých iontů Cl<sup>-</sup> a SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> na aktivitu není možné kompenzovat přidávkou alkalicky reagujících složek (Na<sup>+</sup> a K<sup>+</sup>).

Ve zmíněných pracích<sup>45-47</sup> je však zcela nedostatečně specifikován postup a způsob přípravy studovaných katalyzátorů. Pro správnou interpretaci vlivu alkalických kovů na vlastnosti katalyzátorů je totiž nezbytně nutné přesně charakterizovat srovnávané katalyzátory a vyloučit, nebo alespoň výrazně omezit vliv ostatních faktorů, zejména pak vliv způsobu přípravy na posuzované vlastnosti. Proto nelze výsledky uvedené v pracích Suchoručičky a Semenové<sup>45-47</sup> považovat za dostatečně spolehlivé a vhodné pro objektivní popis sledovaných závislostí.

Klier a spol.<sup>48</sup> se ve své práci zabývali poněkud jinou problematikou. Zkoumali vliv dopování povrchu dvojsložkového katalyzátoru o složení Cu/Zn = (30/70 at.%) cesiem na jeho selektivitu při syntéze methanolu, která byla vztažena na nežádoucí paralelní reakci konverze oxidu uhelnatého. Autoři dospěli k závěru, že dopování povrchu katalyzátoru CuO/ZnO cesiem zvyšuje jeho aktivitu pro nežádoucí konverzi CO na CO<sub>2</sub> v cílené syntéze methanolu. Ve stejné práci<sup>48</sup> autoři předpověděli obdobný vliv i při aplikaci dalších alkalických kovů, s následujícím pořadím účinku na pokles aktivity katalyzátoru: Cs > Rb > K > Na > Li. Svoji predikci rozšířili i na další typy katalyzátorů CuO/ZnO, obsahujících navíc Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nebo Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

Vlivem cesných iontů na vlastnosti měděných nosičových katalyzátorů pro nízkoteplotní konverzi syntézního plynu se zabýval kolektiv autorů vedený Campbellem<sup>49-51</sup>. Výsledky jejich výzkumu nejsou bezprostředně aplikovatelné v technologické praxi, neboť byl prováděn na monokrystalech mědi

dopovaných cesiem za přispění speciálních laboratorních technik pro přípravu vzorků katalyzátorů.

Závěry výzkumu promočních schopností cesia na měděných monokrystalech Cu(111) a Cu(110) prezentované v pracích Campbella a Koela<sup>50</sup> a Campbella a spol.<sup>51</sup> jsou velmi podobné a vypovídají o tom, že přidavek cesia na povrchu obou monokrystalů způsobuje značný nárůst aktivity monokrystalů mědi pro nízkoteplotní konverzi syntézního plynu.

Maximální efekt byl u monokrystalu Cu(111) experimentálně prokázán při pokrytí 2,5·10<sup>14</sup> atomy cesia na cm<sup>2</sup>, což reprezentuje 14 % pokrytí jeho povrchu. V porovnání s Cu(111) nepromotovaným cesiem vyvolá tato modifikace přibližně 15 násobný nárůst reakční rychlosti. U krystalové modifikace Cu(110) vede dopování povrchu Cs k 5 násobné změně reakční rychlosti při optimálním pokrytí povrchu cesiem, který odpovídá 27 % monovrstvy. Při vyšším pokrytí, až 55 %, se v porovnání s optimálním pokrytím reakční rychlost snižuje. Přesto však je tato rychlost stále vyšší, než je rychlost na cesiem nepromotovaném povrchu Cu(110). Campbell a spol.<sup>51</sup> porovnáním katalyzátoru TDS Cs/Cu(110) před a po nízkoteplotní konverzi došli k závěru, že se cesium vystavené podmínkám nízkoteplotní konverze stabilizuje tvorbou uhlíčanu.

Z literárních poznatků vyplývá, že cesium je dobrým promotorem katalyzátoru pro nízkoteplotní konverzi synplynu. Mechanismus jeho účinku není dosud spolehlivě znám, ale podle Campbella a spol.<sup>51</sup> cesium snižuje aktivační energii rychlost určujícího kroku, čímž dochází ke zvýšení aktivity katalyzátoru. Závislost aktivity katalyzátoru na obsahu cesia vykazuje maximum, a proto je pro maximální účinek tohoto promotoru nutné připravovat katalyzátor s takovým obsahem cesia, který odpovídá jeho maximálnímu vlivu na zvýšení katalytické aktivity.



Studiem vlivu uhličitánů alkalických kovů na katalytické vlastnosti nízkoteplotního konverzního katalyzátoru se zabýval také Obermajer<sup>52</sup>. Výsledky jeho studia vypovídají o negativním vlivu uhličitánu sodného a draselného na aktivitu katalyzátoru. Monotónní pokles relativní aktivity v závislosti na koncentraci oxidu sodného a draselného byl zjištěn v celém sledovaném koncentračním intervalu 0,1–5 hm.%. Pozitivní vliv na katalytickou aktivitu byl, v souladu s výsledky Campbella a spol.<sup>49–51</sup>, zjištěn u katalyzátorů modifikovaných uhličitánem cesným, kdy při koncentraci Cs<sub>2</sub>O 0,084 hm.% bylo nalezeno aktivitní maximum, které odpovídalo zvýšení aktivity o 20 %, vtaženo k aktivitě standardního, uhličitánem alkalického kovu nemodifikovaného katalyzátoru. Na rozdíl od prací Campbella a spol.<sup>49–51</sup> byly studovány vzorky reálného průmyslově aplikovatelného katalyzátoru, což má význam pro praktické využití získaných poznatků.

### 3. Závěr

Cílem tohoto přehledného článku bylo prohloubení poznatků o katalyzátorech pro proces konverze syntézního plynu. Jeho přínosem je souhrn informací o všech fázích technologie přípravy, zejména měděného, trojsložkového katalyzátoru CuO–ZnO–Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> pro nízkoteplotní variantu konverzního procesu. V současné době jsou preferovány katalyzátory s obsahem účinné složky 50–60 hm.% CuO, 25–15 hm.% ZnO a 10–20 hm.% Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Vzájemný poměr složek (Cu+Zn)/Al má být volen tak, aby prekurzor připravovaného katalyzátoru obsahoval hydrotalcitovou fázi, tj. s poměrem kovových kationtů M<sup>2+</sup>/M<sup>3+</sup> = 3. Přítomnost této fáze je v důsledku homogenní distribuce jednotlivých složek uvnitř její vrstevnaté struktury zárukou vysoké disperzity mědnaté složky. Nejnovější poznatky o promočních účincích uhličitánů alkalických kovů jsou výsledkem nedávno dokončené experimentální studie<sup>52</sup> jednoho z autorů tohoto článku.

*Práce vznikla za podpory MŠMT ČR v rámci projektu č. CEZ MSMT 223100001.*

### LITERATURA

- Basiňská A., Domka F.: *Wiad. Chem.* 40, 351 (1986).
- Denisov A. A., Židkov B. A., Plygunov A. S.: *ZSSR* 303986 (1971).
- Overstreet A. D., Berispek V.: *Dizertační práce*. Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg 1975.
- Aldridge C. L., Kalina T.: DE 1928389; *Chem. Abstr.* 73, 29435 (1970).
- Segura M. A., Aldridge C. L., Riley K. L., Pine L. A.: US 3974094 (1976).
- Riley K. L., Aldridge C. L.: DE 2453784 (1975); *Chem. Abstr.* 84, 7441 (1976).
- Segura M. A., Aldridge C. L.: US 4054644 (1977); *Chem. Abstr.* 88, 76445 (1978).
- Yixuan C., Zhaobin C., Yanxin C., Huaxin L., Zupei H., Huiqing L., Yonglei D., Chunying J., Wenzhao L.: *J. Mol. Catal.* 21, 275 (1983).
- Gazerla R., Lenarda M., Pinna F., Graziani M.: *J. Organomet. Chem.* 208, C43 (1981).
- Kaneda K., Kobayashi M., Imanaka T., Teranishi S.: *Chem. Lett.* 9, 1483 (1984).
- Verdonck J. J., Jacobs P. A., Uytendhoeven J. B.: *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1979, 181.
- Lei G., Kevan L.: *J. Phys. Chem.* 96, 350 (1992).
- Newsome D. S.: *Catal. Rev. – Sci. Eng.* 21, 275 (1980).
- Campbell J. S.: *Ind. Eng. Chem. Process Res. Dev.* 9, 588 (1970).
- Amadeo N. E., Laborde M. A.: *Trends Chem. Eng.* 3, 159 (1996).
- Porta P., Campa M. C., Fierro G., Lo Jacono M., Minelli G., Moretti G., Stoppa L.: *J. Mater. Chem.* 3, 505 (1993).
- Herman R. G., Klier K., Simmons G. W., Finn B. P., Bulko J. B., Kobylinski T. P.: *J. Catal.* 56, 407 (1979).
- Andrews S. P. S.: *7<sup>th</sup> Int. Congr. Catal., Post-Congr. Symp., Osaka 1980*, Paper 12.
- Chinchen G. C., Waugh K. C., Whan D. A.: *Appl. Catal.* 25, 101 (1986).
- Klier K.: *Adv. Catal.* 31, 243 (1982).
- Burch R., Chappell R. J.: *Appl. Catal.* 45, 131 (1988).
- Robinson W. A. R. M., Mol J. C.: *Appl. Catal.* 60, 61 (1990).
- Kanai Y., Watanabe T., Fujitani T., Uchijima T., Nakamura J.: *Catal. Lett.* 38, 157 (1996).
- Nakamura J., Kanai Y., Uchijima T., Fujitani T.: *Catal. Today* 28, 223 (1996).
- Spencer M. S.: *Top. Catal.* 8, 259 (1999).
- Fujitani T., Nakamura J.: *Appl. Catal., A* 191, 111 (2000).
- Shiskov D., Vicinska R., Kasahova N.: *God. Vissh. Khim. Tekhnol.* 4, 113 (1977).
- Putanov P., Lomić G.: *React. Kinet. Catal. Lett.* 32, 165 (1986).
- Putanov P.: *Glas. Hem. Drus., Beograd* 42, 347 (1977).
- Putanov P., Jovanović S.: *Bull. Soc. Chim. Beograd* 35, 279 (1970).
- Himelfarb P. B., Simmons G. W., Klier K., Herman R. G.: *J. Catal.* 93, 407 (1985).
- Čerkasov G. P.: USSR 582829 (B01J37/02) (1977).
- Čerkasov G. P.: USSR 709163 (B01J37/00), (C01B2/10) (1980).
- Šutov J. M.: USSR 732002 (B01J37/00) (1980).
- Höppener R. H., Doesburg E. B. M., Scholten J. J. F.: *Appl. Catal.* 25, 109 (1986).
- Vosolobě J., Glaser V., Boháč J., Saleta L., Štajer P.: *Závěrečná zpráva: Laboratorní a poloprovozní příprava katalyzátoru pro nízkoteplotní konverzi vodního plynu*. VŠCHT Praha, Praha 1967.
- FRA 1385442 (1963).
- Boháč J., Glaser V.: *Sborník VŠCHT Praha B23*, 177 (1978).
- Bussetto C., Del Piero G., Manara G., Trifirò F., Vaccari A.: *J. Catal.* 85, 260 (1984).
- Ginés M. J. L., Amadeo N., Laborde M., Apesteguía C. R.: *Appl. Catal., A: General* 131, 283 (1995).
- Garbassi F., Petrini G.: *J. Catal.* 90, 106, 113 (1984).
- Okamoto Y., Fukino K., Imanaka T., Teranishi S.: *J. Phys. Chem.* 87, 3740 (1983).
- Gherardi P., Ruggeri O., Trifirò F., Vaccari A., Del Piero G., Manara G., Notari B.: *Stud. Surf. Sci. Catal.* 16, 723 (1983).
- Mross W.-D.: *Catal. Rev. – Sci. Eng.* 25, 591 (1983).

45. Suchoručkina L. A., Semenova T. A.: Trudy GIAP 47, 30 (1977).
46. Suchoručkina L. A., Semenova T. A.: Trudy GIAP 47, 34 (1977).
47. Suchoručkina L. A., Semenova T. A.: Chim. Prom. (Moskva) 2, 97 (1984).
48. Klier K., Young C.-W., Nunan J. G.: Ind. Eng. Chem. Fundam. 25, 36 (1986).
49. Campbell C. T.: Chem. Phys. Solid Surf. 6, 287 (1993).
50. Campbell C. T., Koel B. E.: Surf. Sci. 186, 393 (1987).
51. Campbell J. M., Nakamura J., Campbell C. T.: J. Catal. 136, 24 (1992).
52. Obermajer J.: *Dizertační práce*. VŠCHT Praha, Praha 2000.

**J. Obermajer<sup>a</sup> and B. Dvořák<sup>b</sup>** (<sup>a</sup>DEZA a.s., Valašské Meziříčí, <sup>b</sup>Department of Organic Technology, Institute of Chemical Technology, Prague): **Catalysts for the Water-Gas Shift Reaction**

The present paper covers the current state-of-art in preparation and characterization of the three-component CuO–ZnO–Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> catalyst for the low-temperature water-gas shift reaction. A complete description of all important technological stages of this catalyst is provided. Conclusions are also drawn on the basis of a recently completed experimental study on the promotion effect of alkaline metal carbonates on the rate of water-gas shift reaction.



# CYKLODEXTRÍNY A ICH KOMPLEXY – ŠTRUKTÚRA A INTERAKCIE

PETER MIKUŠ<sup>a</sup>, RADOVAN ŠEBESTA<sup>b</sup>,  
DUŠAN KANIANSKY<sup>a</sup> a MARTA SALÍŠOVÁ<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Katedra analytickej chémie a <sup>b</sup>Katedra organickej chémie,  
Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Mlynská  
dolina CH-2, 842 15 Bratislava, Slovenská republika  
e-mail: pmikus@fns.uniba.sk

Došlo dňa 21.IX.2000

Kľúčové slová: cyklohextríny, interakcie, komplexy hos-  
titeľ–host'

## Obsah

1. Úvod
2. Interakcie uplatňujúce sa v inklúznej komplexácii cyklohextrínov
3. Usporiadanie a stabilita inklúzných komplexov cyklohextrínov
  - 3.1. Úloha funkčných skupín hostujúcich molekúl
  - 3.2. Enantioselektívna inklúzna komplexácia
  - 3.3. Vplyv prostredia
4. Niektoré termodynamické aspekty inklúznej komplexácie

## 1. Úvod

V súčasnosti nachádzajú cyklohextríny (ďalej CD) významné uplatnenie v praxi. V tejto súvislosti stojí za zmienku, že viac než 14 000 publikovaných prác a patentov pojednáva o CD a ich využití<sup>1</sup>. Dá sa odhadnúť, že z tohoto počtu nie menej než 5000 prác má priamu alebo nepriamu väzbu na analytickú chémiu a napríklad CD sú najpoužívanejšie chirálne selektory v separáciách enantiomérov nízkomolekulových látok<sup>1,2</sup>. CD nachádzajú využitie v simulácii niektorých bioprocsov<sup>3</sup> a používajú sa ako katalyzátory v organickej syntéze<sup>4</sup>. Využívajú sa aj ako súčasť liečiv, potravinárskych a kozmetických výrobkov a pesticídnych prípravkov<sup>5–7</sup>. Vo všetkých uvedených prípadoch je dôležitá najmä schopnosť CD tvoriť inklúzne komplexy.

Tvorbu inklúzných komplexov s hosťujúcimi látkami umožňuje kavita CD, ktorú u najčastejšie používaných CD tvorí šesť ( $\alpha$ -CD), sedem ( $\beta$ -CD) alebo osem ( $\gamma$ -CD) jednotiek D-glukózy navzájom spojených  $\alpha$ -1,4-glykozidickými väzbami<sup>8</sup>. Práce pojednávajúce o tvorbe, štruktúre a stabilite CD komplexov vychádzajú najmä z výsledkov RTG analýz<sup>9</sup>, spektrálnych metód (predovšetkým NMR) (cit.<sup>10</sup>), termodynamických a kinetických metód<sup>11</sup> a metód molekulového modelovania<sup>12</sup>. Informácie o čistote a štruktúre preparátov CD možno získať aj použitím vysokoúčinných separačných metód<sup>13</sup>.

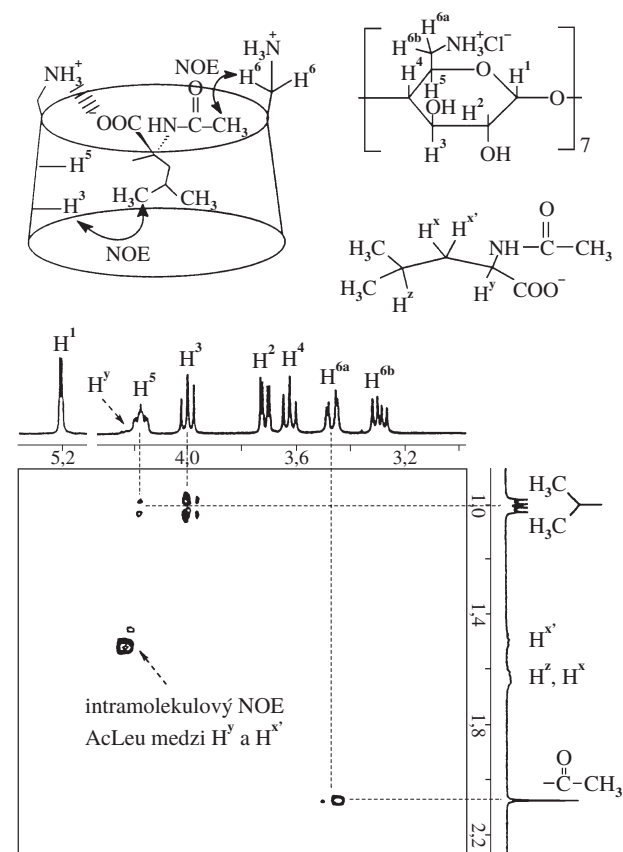
Jednoduchý mechanizmus, ktorým by bolo možné popísať

tvorbu komplexov hosťiteľ–host' s CD ako hosťiteľom, v súčasnosti neexistuje a cieľom tohoto článku je podať prehľad interakcií a efektov, ktoré sa pri tvorbe komplexov natívnych a derivatizovaných CD uplatňujú. V tomto kontexte je pozornosť zameraná aj na štruktúru a stabilitu CD a ich komplexov.

## 2. Interakcie uplatňujúce sa v inklúznej komplexácii cyklohextrínov

Nekovalentné interakcie, ktoré prispievajú k tvorbe inklúzných komplexov CD a ktoré podmieňujú ich stechiometriu a stabilitu<sup>14,15</sup>, je účelné rozdeliť do nasledujúcich skupín<sup>11,12</sup>:

1) Príťažlivé van der Waalsove a disperzné sily. Popri týchto sa v tvorbe komplexov uplatňujú aj odpudivé sily a sterické efekty<sup>16</sup>. Van der Waalsove sily majú pôvod v interakciách dipól–dipól, dipól–indukovaný dipól, prípadne bodovej coulombovskej interakcii (obr. 1). Medzi nepolárnymi časťami interagujúcich molekúl pôsobia disperzné sily (Londonove



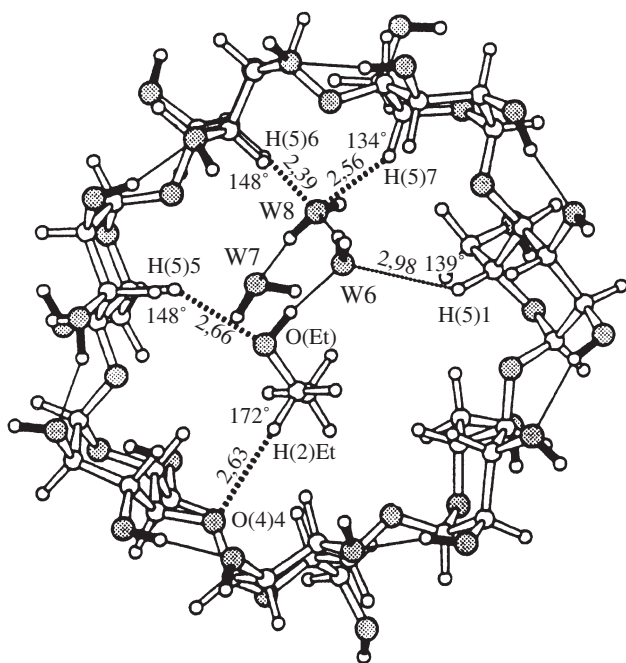
Obr. 1. Interakcie v inklúznej asociácii nabitých molekúl. Štruktúra komplexu per-amino- $\beta$ -CD s N-acetylovaným derivátom (*S*)-leucínu [(*S*)-AcLeu] (hora), navrhnutá na základe <sup>1</sup>H NMR spektroskopie (dole). ROESY spektrum systému per-amino- $\beta$ -CD-(*S*)-AcLeu bolo namerané v D<sub>2</sub>O pri pD 6,0 a 25 °C (prevzaté so súhlasom z práce<sup>14</sup>)

sily). Elektrostatické interakcie pochádzajúce od elektricky nabitých funkčných skupín, t.j. sily ďalekého dosahu, sú lokalizované hlavne na vonkajšej strane kavity. V dôsledku nerovnomerného rozloženia náboja v molekule CD (príspevky primárnych a sekundárnych hydroxylových skupín a glykozidického kyslíka) je táto polarizovaná pozdĺž osi kavity<sup>17</sup>. V komplexe je dipól hosta antiparalelný k dipólu hostiteľa<sup>18</sup>, a ako dôsledok tohoto môže molekula CD meniť tvar<sup>19</sup>.

Stérické parametre a flexibilita  $\alpha$ -,  $\beta$ - a  $\gamma$ -CD úzko súvisia s pásom vodíkových väzieb pozdĺž okraja sekundárnych hydroxylových skupín. Derivatizáciou týchto skupín je možné účinne ovplyvňovať stérické parametre CD (cit.<sup>9,10,20,21</sup>). Väčšie stérické zábrany sú charakteristické pre derivatizáciu sekundárnych ako primárnych hydroxylových skupín. Tesné stérické usporiadanie inklúzneho komplexu má zvyčajne najvyššiu stabilitu, pretože týmto sa efektívne uplatňujú aj disperzné sily, pôsobiace na krátku vzdialenosť, alebo van der Waalove sily s kratším dosahom, ktoré sú lokalizované vo vnútri CD kavity. V inklúznom procese nemajú disperzné sily charakter orientujúcich interakcií<sup>11</sup>.

Vysoký stupeň konformačnej voľnosti CD, ktoré sú tvorené viac ako ôsmimi jednotkami D-glukózy limituje ich využitie vo funkcii hostiteľských komplexotvorných činidiel<sup>7,20</sup>.

2) Význam príspevku vodíkových väzieb k tvorbe komplexov CD súvisí s veľkým počtom kyslíkových atómov uplatňujúcich sa vo funkcii Lewisových báz a veľkým počtom vodíkových atómov hydroxylových skupín, ktoré sa správajú ako Lewisove kyseliny (obr. 2). Vodíkové väzby spravidla stabilizujú komplexy hostiteľ–host<sup>12</sup>. Vodíkové väzby hydroxylových skupín CD s molekulami rozpúšťadla sú konkurenčné



Obr. 2. Interakcie vodíkových väzieb typu O–D...O (tenké čiary) a C–H...O (bodkované čiary) v deuterovanom  $\beta$ -CD, komplexotvorne viazanom s etanolom (EtOH) a 8 D<sub>2</sub>O. Kavita akomoduje jednu molekulu etanolu a tri molekuly vody W6, W7 a W8 (prevzaté so súhlasom z práce<sup>22</sup>)

voči vodíkovým väzbam v komplexoch a obvykle determinujú rozpustnosť CD a ich komplexov<sup>6</sup>. Na rozdiel od hydrofóbných interakcií<sup>23</sup> stabilita vodíkových väzieb v inklúznych komplexoch s rastúcou teplotou klesá.

3) Hydrofóbné interakcie sú sprostredkované hydrofóbnou časťou molekuly CD, ktorou je jej vnútorný povrch (C–H skupiny)<sup>7,9,21</sup>. Predstavujú hnaciu silu na oddelenie nepolárnej časti molekuly hosta od molekúl vody a sú považované za kľúčové v mechanizme inklúzneho procesu<sup>10</sup>.

4) Uvoľnenie energie konformačného prnutia hostiteľa po komplexácii<sup>24</sup>. Toto sa pripisuje energetickejšej menej výhodnej konformácii nekomplexovaného hostiteľa, pravdepodobne kvôli vodíkovým väzbám glukózových jednotiek s molekulami vody alebo „kolapsu“ makrocyclu, v porovnaní s konformáciou, ktorá sa uplatňuje v komplexe.

### 3. Usporiadanie a stabilita inklúznych komplexov cyklodextrínov

Najbežnejšie stochiometrické pomery hostiteľ–host v CD komplexoch sú 1:1. Stochiometrické pomery 2:1, 1:2, 2:2, ako aj komplikovanejšie asociáty, bežne sprevádzajú prevládajúcu formu komplexu<sup>4,7</sup> (obr. 3a). Vyššie stochiometrické pomery favorizuje aj dimenzácia CD intermolekulovými vodíkovými väzbami<sup>27</sup>.

Asociované molekuly hostiteľa a hosta sú vzájomne orientované tak, aby interakcie medzi ich funkčnými skupinami boli komplementárne<sup>12</sup>. Komplexy so stochiometriou 1:1 môžu byť preto usporiadané v konfigurácii „head-to-head“ alebo „head-to-tail“ (obr. 3a).

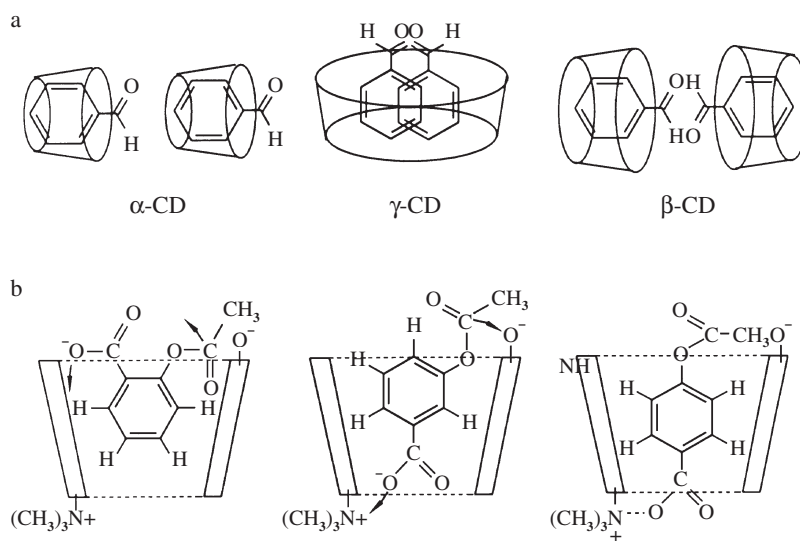
#### 3.1. Úloha funkčných skupín hosťujúcich molekúl

Nabité a hydrofilné skupiny hosta (hydroxylová, amino a karboxylová skupina) (cit.<sup>11,28</sup>) zostávajú mimo CD kavity aj po penetrácii jeho hydrofóbnou časťou do kavity a interagujú s externe orientovanými skupinami CD (obr. 1 a 3) alebo s molekulami vody (polárneho rozpúšťadla). Osobitne fenolické a v menšej miere aj hydroxylové skupiny nižších alifatických alkoholov môžu tvoriť vodíkové väzby aj vo vnútri CD kavity<sup>9</sup> (obr. 2). Nitroskupina na aromatickom jadre sa môže podieľať na indukovaných elektrostatických interakciách s CD (cit.<sup>11</sup>). Hydrofóbnou väzbou sa pripisuje asociácia alkylových reťazcov aminokyselín s vnútorným povrchom CD (obr. 1) (cit.<sup>5,6,11,14</sup>).

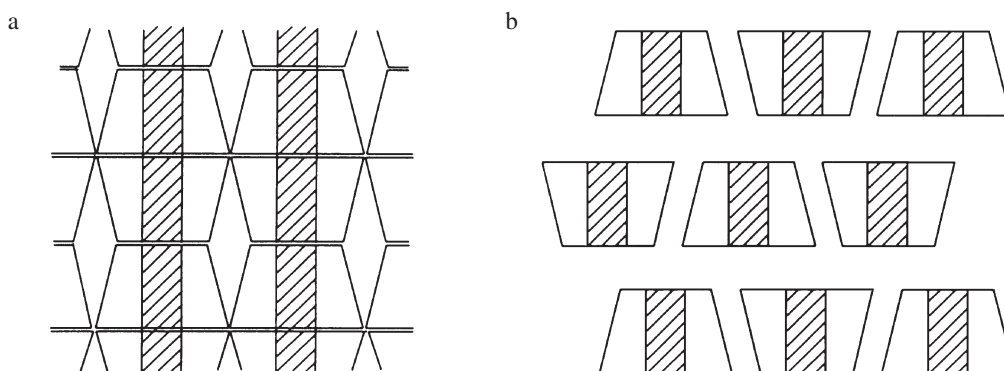
Orientácia *n*-alkylderivátov benzénu v CD závisí od dĺžky *n*-alkylového reťazca<sup>29</sup>. Vplyv polohy substituenta na aromatickom jadre na penetráciu hosťujúcej molekuly do CD kavity ilustruje obrázok 3b. Afinita hosťujúcich molekúl k CD závisí aj od ich konformácie<sup>10</sup>. Cyklické nasýtené uhľovodíky (aj vyššie deriváty cykloalkánov ako C7) preferujú  $\beta$ -CD, kým acyklické preferujú  $\alpha$ -CD. Imidazol je jediný aromatický systém, ktorý má vyššiu afinitu k  $\alpha$ -CD ako k  $\beta$ -CD (cit.<sup>11</sup>).

#### 3.2. Enantioselektívna inklúzna komplexácia

Enantioselektívne rozlíšenie má pôvod v rozdielnom umiestnení enantiomérov v CD kavite, pričom sa pri stabilizácii



Obr. 3. Závislosť konformácie hostiteľ–host' od: a – veľkosti CDavity, b – polohy substituenta na aromatickom jadre [geometrie komplexov *o*-, *m*- a *p*-izomérov kyseliny acetoxybenzovej s mono-(6-trimetylamónium-6-deoxy)- $\beta$ -CD] (prevzaté so súhlasom z prác<sup>25,26</sup>)



Obr. 4. Príklady priestorového usporiadania CD komplexov v tuhom stave. a – tvorba kanálikov („channel type“), b – tvorba „klietok“ („cage type“) (prevzaté so súhlasom z práce<sup>32</sup>)

diastereomérnych komplexov môžu uplatniť rozdielne interakcie<sup>9</sup>. Pre enantiozvláštnosť je nevyhnutné, aby hostiteľská molekula bola v kontakte prinajmenšom s tromi väzbovými miestami molekuly host'a. Derivatizáciou hosťujúcich a hostiteľských molekúl sa do komplexotvorného mechanizmu vnášajú nové interakcie, čím sa často dosahujú pozitívne zmeny v enantioselektivitě. Enantioméne rozlíšenie bolo získané napríklad v prípade niektorých aminokyselín a peptidov, derivatizovaných 2,4-dinitrofluórbenzénom. Tu sa enantioselektivita pripisuje tesnému sterickému usporiadaniu dinitrofenylového substituenta v kavite CD (cit.<sup>30,31</sup>).

Vzájomné elektrostatické interakcie medzi pozitívne nabitým mono-(6-trimetylamónium-6-deoxy)- $\beta$ -CD alebo heptakis(6-amino-6-deoxy)- $\beta$ -CD a negatívne nabitými molekulami host'a ovplyvňujú nielen stabilitu inklúzneho komplexu, ale aj orientáciu host'a v molekule hostiteľa<sup>14,26</sup>.

Zlepšenie enantioselektívnych vlastností derivatizovaných CD v porovnaní s natívnymi môže byť interpretované ako

dôsledok väčších možností konformačných zmien hostiteľských molekúl indukovaných inklúziou<sup>9,12,19</sup>. Tieto zmeny závisia od flexibility hostiteľských molekúl a v prípade flexibilnejších CD vedú k priaznivejšiemu usporiadaniu molekuly host'a a k priaznivejším energetickým pomerom vznikajúcich komplexov. Napríklad flexibilný permetylovaný  $\beta$ -CD je pre chirálne binaftyly enantioselektívnejší ako rigidný nesubstituovaný  $\beta$ -CD (cit.<sup>10</sup>).

V pevnom stave boli pozorované dve usporiadania chirálnych hosťujúcich molekúl v inklúzných komplexoch (obr. 4) (cit.<sup>32</sup>): *i*) s hosťujúcimi molekulami distribuovanými vo vnútri kanálikov (len interný kontakt host'a s CD), *ii*) s hosťujúcimi molekulami čiastočne inkludovanými v CD kavite a čiastočne vyčnievajúcimi do medzipriestoru dvoch alebo viacerých susedných molekúl CD (interný aj externý kontakt host'a s CD). Väčšia enantioselektivita sa dosahuje v druhom usporiadaní. Tento fakt poukazuje na úlohu vonkajšieho povrchu CD v rozlíšení enantiomérov<sup>4,33</sup>.

### 3.3. Vplyv prostredia

Zvýšenie iónovej sily spravidla zoslabuje interakcie ión–ión a ión–dipól a zosilňuje hydrofóbne interakcie v komplexoch hosťiteľ–host<sup>26</sup>. Opačný účinok na hydrofóbne interakcie majú organické rozpúšťadlá. V tejto súvislosti je však potrebné poznamenať, že interakcie molekúl aromatického charakteru s CD môže organické rozpúšťadlo podporiť<sup>34</sup>. Molekuly organických rozpúšťadiel môžu prispieť k interakcii hosťa s CD (cit.<sup>10</sup>) ako spoluhostujúce molekuly, a to prostredníctvom vodíkových väzieb C–H...O (cit.<sup>22</sup>) (obr. 2). Tieto väzby navyše podmieňujú orientáciu hosťa v kavite<sup>9</sup>.

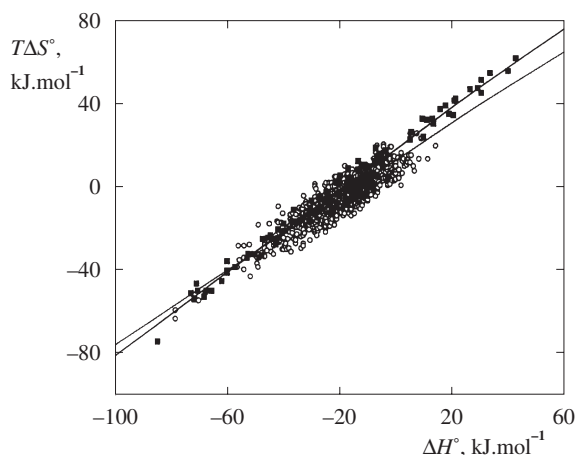
Iónogenné deriváty CD a elektricky nabité hosťujúce molekuly (napríklad, karboxylové anióny aminokyselín<sup>35</sup>) môžu tvoriť ternárne komplexy s kovovými iónmi (Ca<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>) (cit.<sup>9</sup>). Pri tvorbe takýchto komplexov kovové ióny nahrádzajú molekuly vody viazané vodíkovými väzbami k hydroxylovým skupinám CD. Zvýšenie stability inklúzných komplexov liečiv s derivatizovanými CD bolo pozorované v ternárnych systémoch s vodorozpustnými polymermi<sup>5</sup> a látkami amfifilného charakteru<sup>10</sup>.

Močovina, vyznačujúca sa mimoriadnou afinitou k molekulám vody, vplyva na CD a ich komplexy prostredníctvom solvatačných efektov. Močovina zvyšuje rozpustnosť  $\beta$ - a  $\gamma$ -CD vo vode a rozpustnosť  $\alpha$ -CD znižuje. Močovina a jej deriváty môžu meniť enantioselektivitu CD (cit.<sup>36</sup>).

## 4. Niektoré termodynamické aspekty inklúznej komplexácie

Termodynamické parametre priamo korelujú s rozsahom penetrácie hosťa do CD kavity a odrážajú zmeny v interakciách, hydrofobicite a solvatácii zapríčinené kontaktom hosťa s kavitou hosťiteľa a jej blízkym okolím. Tieto parametre sú vyjadrované zmenou Gibbsovej energie  $-\Delta G^\circ$ , entropie  $\Delta S^\circ$  a entalpie  $\Delta H^\circ$  alebo asociačnou konštantou  $K$ . Kompenzačný entalpicko-entropický vzťah pre tvorbu CD komplexov je určený závislosťou  $T\Delta S^\circ$  vs.  $\Delta H^\circ$  (obr. 5) (cit.<sup>37</sup>). Príspevok vyjadrený entalpiou ( $\Delta H^\circ$ ) odzrkadľuje schopnosť interagujúcich molekúl tvoriť vzájomné väzby, ale entropický člen ( $T\Delta S^\circ$ ) určuje konečnú stabilitu komplexu (môže kompenzovať entalpický príspevok). Mieru kompenzácie vyjadruje smernica uvedenej závislosti. Vysoká hodnota smernice poukazuje na výrazný vplyv entropie na stabilizáciu CD. Zmeny entropie sú ukazovateľmi zmien konformácie a desolvatácie hosťa a hosťiteľa, ktoré sú výraznejšie v prípade CD derivátov s flexibilnými hydrofilnými substituentami v porovnaní s natívnymi CD (obr. 5). Analógia platí aj pre flexibilitu hosťujúcich molekúl. Napríklad CD komplexy nasýtených uhľovodíkov majú vyššie konštanty stability v porovnaní s nenasýtenými. Pre hydrofóbnu väzbu<sup>28</sup> súvisí zvýšenie entropie systému s uvoľnením solvatujúcich molekúl vody z hosťujúcej molekuly a z kavity hosťiteľa a v prípade CD s funkčnou skupinou elektricky opačne nabitou voči molekule hosťa uvoľnením molekúl vody z iónovo-väzbových miest po komplexácii. Vodíkové väzby nemusia prispievať k stabilite komplexov hosťiteľ–host, ak majú za následok nežiaduce zmeny entropie<sup>38</sup>.

Veľkosť entalpického člena závisí od povahy hosťa. Napríklad  $\Delta G^\circ$  a  $\Delta H^\circ$  hodnoty komplexácie s  $\beta$ -CD sú pre hosťu-



Obr. 5. Diagram entalpicko-entropickej kompenzácie pre natívne (O) a derivatizované (■) CD. Regresná závislosť s menšou smernicou korešponduje s natívnymi CD a závislosť s väčšou smernicou s derivatizovanými CD (prevzaté so súhlasom z práce<sup>11</sup>)

júce molekuly aromatického charakteru negatívnejšie v porovnaní s alifatickými molekulami rovnakého počtu uhlíkových atómov. Procesom kontrolovaným takmer úplne entalpiou je napríklad inklúzia metylénových skupín do  $\alpha$ - a  $\beta$ -CD kavity. Vzhľadom na coulombovské interakcie poskytujú elektricky nabité hosťujúce molekuly spravidla väčšie hodnoty asociačných konštant s opačne nabitými CD ako so zodpovedajúcimi natívnymi CD. Príkladmi takýchto komplexov sú mono(6-anilino-6-deoxy)- $\beta$ -CD (cit.<sup>39</sup>) a heptakis(6-amino-6-deoxy)- $\beta$ -CD (cit.<sup>14</sup>) s aminokyselinami. V rozlíšení enantiomérov ( $R,S$ ) je rozhodujúcim rozdiel väzbových entalpií<sup>33</sup> medzi  $R$  a  $S$  hosťom.

*Táto práca bola finančne podporená Slovenskou grantovou agentúrou pre vedu (projekt No. 1/7247/20).*

## LITERATÚRA

1. Sente L., Szejtli J.: *Analyst* 123, 735 (1998).
2. Fanali S.: *J. Chromatogr., A* 792, 227 (1997).
3. Breslow R., Dong S. D.: *Chem. Rev. (Washington, D.C.)* 98, 1997 (1998).
4. Takahashi K.: *Chem. Rev. (Washington, D.C.)* 98, 2013 (1998).
5. Uekama K., Hirayama F., Tetsumi I.: *Chem. Rev. (Washington, D.C.)* 98, 2045 (1998).
6. Hedges A. R.: *Chem. Rev. (Washington, D.C.)* 98, 2035 (1998).
7. Szejtli J.: *Chem. Rev. (Washington, D.C.)* 98, 1743 (1998).
8. Krýsl S., Smolková E.: *Chem. Listy* 79, 919 (1985).
9. Harata K.: *Chem. Rev. (Washington, D.C.)* 98, 1803 (1998).
10. Schneider H. J., Hacket F., Rüdiger V., Ikeda H.: *Chem. Rev. (Washington, D.C.)* 98, 1755 (1998).
11. Rekharsky M. V., Inoue Y.: *Chem. Rev. (Washington, D.C.)* 98, 1875 (1998).



12. Lipkowitz K. B.: *Chem. Rev. (Washington, D.C.)* 98, 1829 (1998).
13. Mikuš P., Kaniansky D., Šebesta R., Sališová M.: *Enantiomer* 4, 279 (1999).
14. Kitae T., Nakayama T., Kano K.: *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* 1998, 207.
15. Matsui Y.: *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 55, 1246 (1982).
16. Sauers R. R.: *J. Chem. Educ.* 73, 114 (1996).
17. Sakurai M., Kitagawa M., Hoshi H., Inoue Y., Chujō R.: *Chem. Lett.* 1988, 895.
18. Kitagawa M., Hoshi H., Sakurai M., Inoue Y., Chujō R.: *Carbohydr. Res.* 163, 1 (1987).
19. Kitagawa M., Hoshi H., Sakurai M., Inoue Y., Chujō R.: *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 61, 4225 (1988).
20. Saenger W., Jacob J., Gessler K., Steiner T., Hoffmann D., Sanbe H., Koizumi K., Smith S. M., Takaha T.: *Chem. Rev. (Washington, D.C.)* 98, 1787 (1998).
21. Khan A. R., Forgo P., Stine K. J., D'Souza V. T.: *Chem. Rev. (Washington, D.C.)* 98, 1977 (1998).
22. Steiner T., Mason S. A., Saenger W.: *J. Am. Chem. Soc.* 112, 8164 (1990).
23. Ross P. D., Rekharsky M. V.: *Biophys. J.* 71, 2144 (1996).
24. Saenger W.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 19, 344 (1980).
25. Rao V. P., Turro N. J., Ramamurthy V.: *Tetrahedron Lett.* 30, 4641 (1989).
26. Matsui Y., Okimoto A.: *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 51, 3030 (1978).
27. Kahn A. R., Tong W., D'Souza V. T.: *Supramol. Chem.* 4, 243 (1995).
28. Hallén D., Schön A., Shehatta I., Wadsö I.: *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* 88, 2859 (1992).
29. Cervelló E., Jaime C.: *J. Mol. Struct.* 428, 195 (1998).
30. Uccello-Barretta G., Balzano F., Menicagli R., Salvadori P.: *J. Org. Chem.* 61, 363 (1996).
31. Kano K., Tatsumi M., Hashimoto S.: *J. Org. Chem.* 56, 6579 (1991).
32. Bortolus P., Monti S.: *Adv. Photochem.* 21, 1 (1996).
33. Lipkowitz K. B., Green K. M., Yang J. A., Pearl G., Peterson M. A.: *Chirality* 5, 51 (1993).
34. Danil de Namor A. F., Trabolssi R., Lewis D. F. V.: *J. Am. Chem. Soc.* 112, 8442 (1990).
35. Bonomo R. P., Di Blasio B., Maccarrone G., Pavone V., Pedone C., Rizzalleri E., Saviano M., Vecchio G.: *Inorg. Chem.* 35, 4497 (1996).
36. Yoshinaga M., Tanaka M.: *J. Chromatogr., A* 710, 331 (1995).
37. Inoue Y., Hakushi T., Liu Y., Tong L. H., Shen B. J., Jin D. S.: *J. Am. Chem. Soc.* 115, 475 (1993).
38. Tewari Y. B., Goldberg R. N., Sato M.: *Carbohydr. Res.* 301, 11 (1997).
39. Liu Y., Zhang Y. M., Sun S. X., Li Y. M., Chen R. T.: *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* 1997, 1609.

**P. Mikuš<sup>a</sup>, R. Šebesta<sup>b</sup>, D. Kaniansky<sup>a</sup>, and M. Sališová<sup>b</sup>** (<sup>a</sup>*Department of Analytical Chemistry, Faculty of Natural Sciences, Comenius University, Bratislava, Slovak Republic*, <sup>b</sup>*Department of Organic Chemistry, Faculty of Natural Sciences, Comenius University, Bratislava, Slovak Republic*): **Cyclodextrins and Their Complexes – Structure and Interactions**

Cyclodextrins (CD) are currently employed in analytical and preparative separations of enantiomers of chiral compounds as well as in some areas of organic and biological chemistry, biochemistry and medicine. In addition, these compounds found broad use in pharmaceutical and food industries. So far, general understanding of mechanisms of formation of inclusion complexes of CD with various guests has been rather limited. This lack of knowledge seems to be associated with structural flexibility of CD and guest molecules.

This paper reviews interactions involved in the formation of the host-guest complexes and summarizes roles of these interactions in the arrangement and stability of the complexes. It discusses roles of functional groups of the guest molecules in the complex formation and pays attention to enantioselectivity of the process. Some thermodynamic aspects of the complexation reactions of CD are included and briefly discussed.

## INTERAKCE INZULÍNU S INZULÍNOVÝM RECEPTOREM

KAREL HUML<sup>a</sup>, LENKA KLASOVÁ<sup>a,b</sup>  
a JANA BARTHOVÁ<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Ústav organické chemie a biochemie, Akademie věd České republiky, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6, <sup>b</sup>Katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Hlavova 6, 128 00 Praha 2  
e-mail: klasova@uochb.cas.cz

Došlo dne 31.VII.2001

Klíčová slova: inzulín, inzulínový receptor, interakce

### Obsah

1. Úvod
2. Molekula inzulínu
3. Inzulínový receptor
4. Interakce inzulín/inzulínový receptor
5. Typy inzulínu a jejich účinnost
6. Závěr

### 1. Úvod

Neschopnost syntézy inzulínu nebo dysfunkce inzulínového receptoru v těle savců způsobují cukrovku a z ní vyplývající řadu dalších onemocnění. V populaci České republiky touto chorobou trpí asi 640 000 obyvatel, z nichž kolem 100 000 si musí inzulín aplikovat injekčně. Přibližně dalších 600 000 jsou tzv. skrytí diabetici, kteří dosud nebyli diagnostikováni. Od roku 1975 se tak v ČR počet onemocnění cukrovkou zdvojnásobil. Ve vyspělých zemích se v následujících 25 letech předpokládá nárůst této choroby o 42 %, v rozvojových zemích pak dokonce o 170 %. Cukrovka se tak stala civilizační chorobou, jejíž výskyt má charakter epidemie<sup>1</sup>.

Proteinový hormon inzulín působí jako efektorová molekula, která aktivuje inzulínový receptor (IR). IR je alosterický enzym, pařící ke skupině receptorů s endogenní tyrosinkinázovou aktivitou (TK) (cit.<sup>2</sup>). Nedostatečná tvorba inzulínu je podstatou onemocnění diabetes mellitus I. typu, zatímco dysfunkce inzulínového receptoru a postreceptorových reakcí vede k diabetu mellitu II. typu, kterým trpí naprostá většina diabetiků. Tento typ diabetu závisí víceméně na věku, životě a způsobu života. Obezita, věk nad 60 let a hypertenze jsou hlavní rizikové faktory a příčiny vzniku diabetu II. typu.

Pro úspěšnou léčbu tohoto závažného onemocnění je zapotřebí poznat mechanismus interakce inzulínu s příslušným receptorem na molekulární úrovni. V posledních desetiletích byla navržena řada strukturních modelů této interakce<sup>3,4</sup>, včetně modelů vysvětlujících negativní kooperativitu interakce inzulín/IR (afinita receptorů klesá s jejich vzrůstající obsaze-

ností)<sup>5,6</sup>. K tomu přispěl nejen rozsáhlý výzkum biochemický, ale i metody rentgenostrukturní analýzy, elektronové mikroskopie a NMR, které dovolují popsat trojrozměrnou strukturu molekul s rozlišením jednotlivých atomů.

V případě inzulínu máme k dispozici terciární struktury většího počtu přírodních inzulínů i jejich analogů. O struktuře IR, vzhledem k její komplikovanosti, existuje méně informací. Přesto se v posledních dvou letech dosáhlo značného pokroku, zejména spojením výsledků experimentálních metod a počítačového modelování, které dávají relativně podrobný obraz o stavbě IR i jeho komplexu s inzulínem<sup>7-9</sup>.

V předložené práci je podán stručný obraz trojrozměrné struktury inzulínu, jeho receptoru a jejich interakce. Článek tak navazuje na publikaci o struktuře inzulínové molekuly v tomto časopise<sup>10</sup>.

### 2. Molekula inzulínu

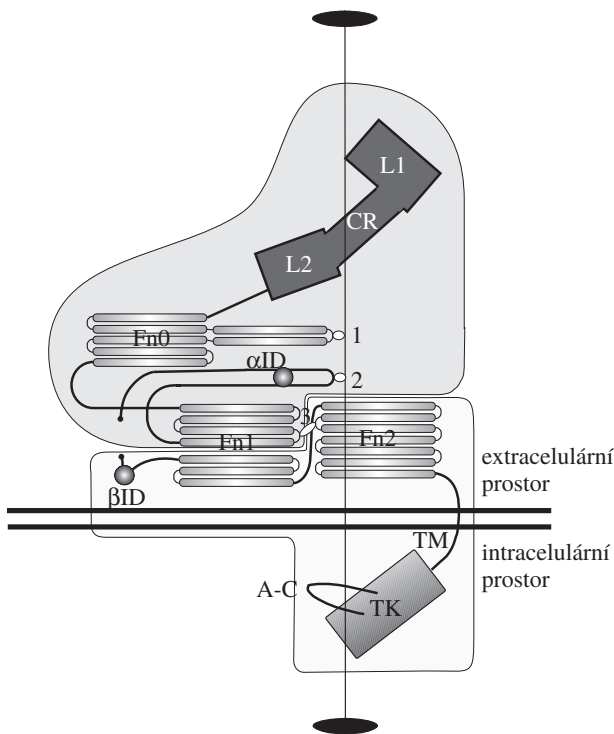
Molekula lidského inzulínu (molekulová hmotnost 5806 Da) se skládá ze dvou řetězců, kde řetězec A obsahuje 21 a řetězec B 30 aminokyselinových zbytků (dále jen zbytků). V krvi se inzulín v koncentracích  $10^{-11}$  až  $10^{-8}$  M vyskytuje ve formě monomeru<sup>11,12</sup> s poločasem života 5 minut (cit.<sup>13</sup>), ve vyšších koncentracích je molekula inzulínu ve formě hexameru. Mikrokrystaly složené z pravidelných hexamerů představují depotní formu inzulínu. Hexamer inzulínu je tvořen třemi dimery inzulínu koordinovanými ionty  $Zn^{2+}$  (cit.<sup>10,11,14</sup>).

Krystalický inzulín se vyskytuje v řadě forem. Je to například forma T (tense) s rozvinutou částí B1 až B8, nebo forma R (relax), kdy uvedený úsek řetězce B má konformaci  $\alpha$  šroubovice a navazuje tak na šroubovici v oblasti B9–B20 (cit.<sup>15</sup>). NMR experimenty prokázaly přítomnost konformace stavu T rovněž ve vodném roztoku hormonu<sup>16</sup>. Z toho někteří autoři usoudili, že stav T představuje aktivní formu inzulínu při interakci s IR (cit.<sup>17</sup>). Na druhé straně však bylo zjištěno, že konformace typu T, nalezená v krystalech nativního inzulínu, je stejná jako konformace neaktivního inzulínového analogu<sup>11,16</sup>. Na základě těchto prací tak nebylo možno rozhodnout, která z forem je při interakci s IR preferována<sup>16</sup>. Z experimentů i počítačové simulace vyplývá, že aktivní forma se vytváří patrně až v blízkosti aktivního místa receptoru<sup>18,19</sup>. Odtud vyplývá snaha řady laboratorů co nejpodrobněji popsat strukturu IR, resp. komplexu inzulín/IR.

### 3. Inzulínový receptor

Inzulínový receptor je membránový glykoprotein patřící do skupiny tyrosinkinázových receptorů tvořený dvěma  $\alpha$ - a dvěma  $\beta$ -podjednotkami vzájemně kovalentně vázanými disulfidickými můstky<sup>2,20</sup>. Je lokalizován na všech tkáňích obratlovců a jeho koncentrace na buňce může být od 40 molekul receptoru na erytrocytech po 200 000 molekul receptoru na adipocytech a hepatocytech. Molekulová hmotnost je 340 kDa a poločas života je 7 hodin<sup>13</sup>. Existence membránového IR





Obr. 1. Schéma inzulínového receptoru. Distribuce aminokyselinových zbytků v jednotlivých oblastech je uvedena v tabulce I. L1, L2 – homologní domény, oblast vazby inzulínu na IR; CR – cystein rich doména; Fn0, Fn1, Fn2 – domény fibronektinu typu III;  $\alpha$ ID – vložená doména  $\alpha$ -podjednotky;  $\beta$ ID – vložená doména  $\beta$ -podjednotky; TM – transmembránová doména; TK – tyrosinkinasa; A-C – aktivační, katalyzační smyčka; 1 – disulfidový můstek na Cys524, místo spojení dvou  $\alpha$ -podjednotek; 2 – disulfidové můstky na Cys682, Cys683 a Cys 685, místo spojení dvou  $\alpha$ -podjednotek; 3 – disulfidový můstek spojující  $\alpha$  a  $\beta$ -podjednotku, spojení Cys647 na  $\alpha$ -podjednotce a Cys872 na  $\beta$ -podjednotce

byla předpovězena již před více než 30 lety<sup>21–23</sup>. Experimentální důkaz uvedené hypotézy podali Yip a jeho spolupracovníci<sup>24</sup> v roce 1978. Primární struktura byla stanovena Ebinou<sup>25</sup>, Ullrichem a jejich kolegy v roce 1985 (cit.<sup>20,26</sup>), kteří prokázali, že IR je proteinový heterotetramer formy  $\beta$ - $\alpha$ - $\alpha$ - $\beta$  kovalentně vázaný disulfidovými můstky. IR je homologický s řadou receptorů, např. s receptorem pro IGF-I (insulin-like growth factor I), EGF (epidermal growth factor), PDGF (platelet-derived growth factor) aj. Gen pro IR je umístěn na krátkém raménku lidského chromosomu 19 a obsahuje 22 exonů. Prekurzor IR je syntetizován jako jeden polypeptidový řetězec, který se skládá ze dvou velkých extracelulárních domén (celá podjednotka  $\alpha$  (735 zbytků) a 1/3 podjednotky  $\beta$  (194 zbytků), jedné transmembránové domény (23 zbytků) a intracelulární domény (2/3 podjednotky  $\beta$  (403 zbytků)). Odštěpením 4 zbytků se oddělí obě podjednotky, které jsou dále vázány pouze disulfidovými můstky. Vytvoří se tak heterodimer inzulínového receptoru skládající se z extracelulární podjednotky  $\alpha$  (135 kDa) a částečně extra- a částečně intracelulární podjednotky  $\beta$  (95 kDa, 620 zbytků). V místě štěpení obou podjednotek může docházet k alternativnímu sestihu exonu 11 (zbytky 718–729), vytváří se tak 2 izofomy IR rozdílné 12

Tabulka I

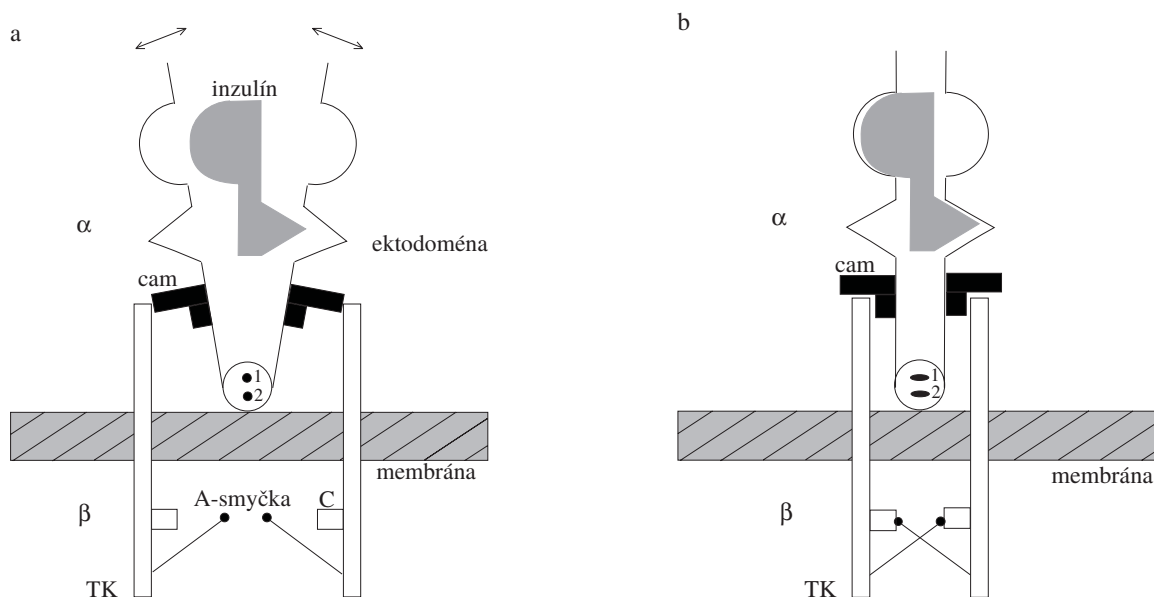
Distribuce aminokyselinových zbytků v inzulínovém receptoru

Název domény na receptoru	Oblast v sekvenci
<i>podjednotka <math>\alpha</math></i>	
L1	(N-konec) 1–158
CR	159–310
L2	311–470
Fn0	471–572
$\alpha$ Fn1	573–661
$\alpha$ ID	662–719 (C-konec)
<i>podjednotka <math>\beta</math></i>	
$\beta$ ID	(N-konec) 724–779
$\beta$ Fn1	780–816
Fn2	817–913
EM (extracelulární vrstva membrány)	914–919
TM	930–952
IM (intracelulární vrstva membrány)	953–977
TK	978–1283
CTR (C-koncová oblast)	1284–1388 (C-konec)

zbytky v blízkosti C-konce podjednotky  $\alpha$  (cit.<sup>2</sup>). Spojením disulfidovými můstky na podjednotce  $\alpha$  dvou heterodimerů IR se vytváří kompletní heterotetramer IR, který je schopen navázat molekulu inzulínu.

Na podjednotkách je možno rozlišit několik domén (obr. 1). Na určení struktury jednotlivých domén se podílela řada autorů. Na sestavení prozatímní kvaternární struktury IR se využívalo i homologii s jinými receptory. Strukturu ektodomény IR na základě homologie s EGF poprvé stanovil Taylor a jeho spolupracovníci<sup>27</sup>. Identifikovali dvě velké homologní domény (L1 a L2) a menší CR (cystein-rich) doménu umístěnou mezi nimi. Trojrozměrnou strukturu ektodomény IGF-I stanovil rentgenostrukturní analýzou Garrett a spol. v roce 1998 (cit.<sup>28</sup>). Pozornost k této části IR směřuje kvůli domnělému vazebnému místu pro inzulín<sup>6,29–33</sup>. Za doménami L1-CR-L2 jsou tři domény fibronektinu typu III (Fn0, Fn1 a Fn2), jejichž strukturu určili metodami NMR a RTG-krytalografie Casasnovas<sup>34</sup>, Copie<sup>35</sup>, Marino-Buslje<sup>36</sup> a jejich spolupracovníci. Fibronektin typu III je sedmivrstvá  $\beta$ -struktura. Doména Fn1 tvoří předěl mezi podjednotkami  $\alpha$  a  $\beta$ , kdy čtyři  $\beta$ -struktury patří podjednotce  $\alpha$  a tři podjednotce  $\beta$ . Transmembránovou doménu (TM) tvoří 23 zbytků  $\alpha$ -helix. Intracelulární tyrosinkinasonou doménu (TK) stanovili krystalograficky Hubbar<sup>37,38</sup> a jeho spolupracovníci. Výsledky počítačového modelování publikoval Ginalski<sup>39</sup>. Na tyrosinkinasonou doméně dochází k autofosforylaci tří tyrosinových zbytků Tyr1158, Tyr1162 a Tyr1163 na aktivační smyčce. Touto autofosforylací dochází ke spuštění celé kaskády intracelulárních pochodů, vedoucích mimo jiné ke stimulaci transportu glukosy dovnitř buňky a následné lipogenezi.

Na tyto dílčí poznatky o struktuře IR navázal Ottensmeyer s kolektivem, který v roce 1999 (cit.<sup>7</sup>) určil metodou skanovací



Obr. 2. Schematické znázornění interakce inzulínu s inzulínovým receptorem. Znázornění funkce úseku „cam“ při navázání inzulínu na IR. Ektodoména IR funguje jako „kleště“, jejichž sevření v důsledku navázání inzulínu způsobí vysmeknutí úseku „cam“ a následně přiblížení aktivních smyček (A-smyčka), tím se tyrosinkinasové (TK) domény dostanou do polohy, kdy může docházet k autofosforylaci tyrosinových zbytků a spuštění kaskády nitrobuňkových dějů závislých na vazbě inzulínu; 1, 2 – disulfidické můstky mezi podjednotkami  $\alpha$ ; C – katalytická oblast

transmisní elektronové kryomikroskopie (STEM) kvarterní strukturu nekovalentního komplexu inzulín/IR. Spojením uvedených informací a za pomoci molekulárního modelování byl vytvořen energeticky optimální model tohoto komplexu<sup>8,9</sup>. Distribuce aminokyselinových zbytků v jednotlivých doménách IR je uvedena v tabulce I.

Dvě podjednotky  $\alpha$  se váží kolmo na dvojčetnou osu souměrnosti disulfidickými můstky v pozicích Cys524, Cys682, Cys683 a Cys685. Disulfidický můstek, který váže podjednotky  $\alpha$  a  $\beta$  dvou různých heterodimerů, je tvořen Cys647 ve Fn1 doméně podjednotky  $\alpha$  a Cys872 ve Fn2 doméně podjednotky  $\beta$ . Katalytická smyčka je tvořena zbytky 1130 až 1137. Aktivační smyčka pak zbytky 1149 až 1170. Prostorová struktura některých oblastí, například C terminální domény nebo vložené domény  $\beta$ ID, není doposud přesně známa<sup>8</sup>.

#### 4. Interakce inzulín/inzulínový receptor

Taylor a další<sup>5,19,32,40,41</sup> vysvětlují aktivaci IR jeho deformací vyvolanou navázáním inzulínu. Předpokládáný mechanismus interakce inzulínu s IR spočívá ve vniknutí molekuly inzulínu do pasti tvořené třemi prvními doménami podjednotky  $\alpha$  označovanými jako L1-CR-L2 (obr. 2).

Podjednotky  $\beta$  receptoru jsou drženy od sebe v potřebné vzdálenosti úsekem „cam“ domény CR, kde úsek cam hraje roli jakési mechanické vačky. Po zachycení inzulínové molekuly receptorem dojde k sevření „kleští“ tvořených doménami L1-CR-L2 obou monomerů, a tím i k vysmeknutí úseku cam. To umožní přiblížení transmembránových a intracelulárních částí podjednotky  $\beta$  obou monomerů, a tím i kontakt aktivačních a katalytických smyček protilehlých TK (obr. 2b), vedou-

cí k transfosforylaci TK a následnému spuštění laviny intracelulárních signálů. Deaktivace IR postupuje patrně opuštěním inzulínové molekuly z kleští třech prvních domén, následně se oddálí domény TK, přičemž dochází k defosforylaci.

Při studiu vazby inzulínu na IR se vycházelo z předpokladu, že kontaktu se účastní především ty zbytky inzulínu, které jsou zodpovědné za tvorbu dimeru, resp. hexameru inzulínu. Postupně se ukázalo, že vazebná interakce inzulínu s IR se děje na amfipatickém povrchu inzulínové molekuly. V jejím středu je hydrofobní oblast velikosti  $150 \text{ \AA}^2$  tvořená: A1, A3, A19, B11, B12, B15, B16, B24, B25 a B26. Polární a nabitě skupiny: A4, A5, A18, A21, B9, B10, B13, B21, B22 a skupina  $\text{COO}^-$  konce řetězce B jsou uspořádány okolo ní. Hydrofobní povrch je zakryt koncovou pohyblivou částí řetězce B, která jej stíní před molekulami rozpouštědla. Úhel mezi amfipatickým povrchem a povrchem dimerizace je asi  $20^\circ$  (cit.<sup>17</sup>). Přibližně stejné skupiny zbytků uvádějí práce<sup>5,8,32,42</sup>. V tabulce II jsou nejkratší kontakty mezi inzulínem a IR získané počítačovým modelováním<sup>8</sup>.

Přesné místo navázání inzulínu na IR není ještě známé. Rozcházejí se zde dva názory. Jedním je předpoklad interakce inzulínu s CR doménou<sup>43-46</sup>. Druhou je spolupráce obou domén L1 a L2 při interakci s inzulínem. Předpokládá se, že C-konec B-řetězce inzulínu kontaktuje N-konec IR (zbytky 20 až 121), zatímco N-konec B-řetězce inzulínu interaguje se zbytky 390 až 488 receptoru<sup>33,47</sup>. Použitím fotoafinitního značení se ukázala možná interakce Phe88-Phe89-Asn90-Tyr91 na IR s PheB24-PheB25-TyrB26 inzulínu<sup>47</sup>. Elektronovou kryomikroskopii<sup>7</sup> se potvrdilo, že jedna část inzulínu se váže na L1 doménu prvního heterodimeru a jiná část inzulínu se naváže na L2 doménu druhého heterodimeru. Vzhledem k dvojčetné souměrnosti IR dimeru se může inzulínová mole-

Tabulka II

Některé nejkratší vzdálenosti mezi postranními řetězci aminokyselinových zbytků inzulínu a inzulínového receptoru

Inzulín	Inzulínový receptor	Vzdálenost mezi postranními řetězci [pm]
<i>monomer I</i>		
GluA4	Arg86 (L1)	250 <sup>a</sup>
ThrA8	Arg86	260
LysB29	Asp12	260
LysB29	Gln4	250
GluA17	Arg331 (L2)	250
GlnA21	Ser323	530 <sup>b</sup>
<i>monomer II</i>		
SerB9	Gln34 (L1)	280
HisB10	Arg14	500 <sup>b</sup>
GluB13	Arg86	250
ValB12	Phe89	250
LeuB17	Leu87	250
TyrB16	Leu87	250
PheB24	Phe88	250
TyrB26	Tyr91	350 <sup>b</sup>
GluB21	His247 (CR)	250
GluB21	Gln249	250
ArgB22	Asp250	400 <sup>b</sup>
ArgB22	Glu287	250
ArgB22	His247	250
AsnA5	Arg331 (L2)	250
AsnA15	Arg331	250

<sup>a</sup> Minimální vzdálenosti během rotace postranních řetězců,

<sup>b</sup> interakce předpokládající přítomnost molekuly vody, vodíkové vazby nebo rotaci celých oblastí L1 a L2

kula zachytit v páru L1-CR-L2 domén ve dvou ekvivalentních orientacích otočením o 180° kolem dvojčetné osy IR. Získaný model však zároveň ukazuje, že úplná afinita vazby inzulínu na IR vyžaduje navázání molekuly na oba heterodimery IR zároveň. To vylučuje současnou plnou vazbu dvou inzulínových molekul, ve shodě s negativní kooperací vazby inzulínu s nízkou vazební afinitou monomerního inzulínu, jak ji předpokládal De Meyts a spol.<sup>5</sup>

## 5. Typy inzulínu a jejich účinnost

Při hodnocení účinnosti jednotlivých typů inzulínu je důležité definovat příslušná kritéria. Je potřebné u jednotlivých typů inzulínu nebo jeho analogů určit jejich biologickou afinitu a aktivitu. Biologická afinita udává schopnost vazby inzulínu, resp. jeho analogu na IR. Biologická aktivita je jakási biologická odpověď na navázání inzulínu na IR, např. schopnost buňky přijmout molekuly glukosy nebo schopnost z přijaté glukosy vytvořit triacylglycerol.

Biologická aktivita se nejdříve testovala pouze *in vivo*

nejčastěji tzv. křečovými testy<sup>48</sup>, kdy se podáním velké dávky inzulínu vyvolala křečová odezva, nebo měřením množství glukosy v krvi po podání inzulínu, resp. jeho analogů<sup>49</sup>. Časová a finanční náročnost těchto testů vedla k zavedení testů *in vitro*, kde se využívá buď plazmatických buněčných membrán nebo izolovaných buněk. Na tomto materiálu se nejčastěji měří biologická afinita, schopnost transportu glukosy, míra lipogeneze, či oxidace glukosy. K těmto pokusům jsou nejčastěji používány celé buňky – adipocyty (potkani<sup>23,50-52</sup>, myši<sup>53</sup>, lidské<sup>51</sup>), hepatocyty (potkani<sup>54</sup>, myši<sup>53</sup>, psi<sup>4,55</sup>), lidské lymfocyty IM-9<sup>56,57</sup>, lidské fibroblasty<sup>58,59</sup> nebo izolované plazmatické membrány z adipocytů, hepatocytů či lidských placentárních buněk<sup>60</sup>. Při zjišťování afinity k IR se měří schopnost kompetice inzulínu, resp. jeho analogu s radioaktivně značeným inzulínem, o vazebné místo na inzulínovém receptoru. Při stimulaci transportu glukosy se měří schopnost inzulínu, resp. jeho analogu stimulovat průnik nemetabolizovatelného radioaktivně značeného analogu glukosy přes plazmatickou membránu dovnitř buňky<sup>52</sup>. Při testování míry lipogeneze se měří schopnost inzulínu, resp. jeho analogu, syntetizovat triacylglycerol z radioaktivně značené glukosy. Uvedené testy *in vitro* jsou přibližně paralelní, nikoliv však identické<sup>42,61</sup>. Je možné mít analog, který má výbornou afinitu k IR, ale jeho schopnost biologické odpovědi je malá.

Při konstrukci nových analogů inzulínu jsou také důležité požadavky na rychlost nástupu účinku<sup>19</sup> a délku jeho trvání. Zajímavé jsou také vedlejší účinky, kdy například [AspB10] inzulín vzniklý substitucí Asp za His je karcinogenní<sup>32</sup>.

Různé typy inzulínu je možné rozdělit podle několika hledisek. Zde si pro ilustraci uvedeme klasifikaci podle původu:

- přírodní (nativní): lidský, vepřový atd. Podrobný popis nalezneme v práci Blundella a spol.<sup>62</sup>,
- genetické mutanty jako Chicago PheB25→LeuB25, Los Angeles PheB24→SerB24, Wakayama ValA3→LeuA3 (cit.<sup>4,11</sup>) EBL3Q Gly B13→GlnB13 (cit.<sup>63</sup>). Uvedené typy byly zjištěny u pacientů v oblastech, podle kterých jsou dané mutanty také pojmenovány. Jejich účinnost byla vesměs menší než 1 %,
  - analogy (syntetické, semisyntetické) vzniklé:
    - transpozicí dvojice či více dvojic zbytků. Nejznámější analog tohoto typu je tzv. Lispro, který se dostal na náš trh pod obchodním názvem Humalog. Jedná se o transpozici ProB28 a LysB29 (cit.<sup>64</sup>),
    - substitucí za jiný zbytek (jeden nebo více) nebo D/L optický antipod<sup>65</sup>,
    - derivací (chemická modifikace) za jinou chemickou skupinu než aminokyselinu nebo změna ve vedlejším řetězci,
    - delecí (vynecháním) vnitřní části řetězce či zkrácením konce řetězce<sup>66</sup>,
  - skupina inzulínu příbuzných látek: IGF-I, IGF-II, EGF, PDGF, bombycin, PTH, relaxin, MIP (cit.<sup>67</sup>).

Významnou skupinu pak tvoří látky vzniklé kombinací uvedených změn. Tak například doposud nejučinnější známý analog [D-AlaB26]des-(B27–B30)-destetrapeptid-inzulín-B26-amid vykazuje 12,5× vyšší afinitu na IR a 9,7× vyšší biologickou aktivitu než lidský inzulín. Jedná se o současnou delecí posledních 4 zbytků C-koncové části řetězce B a substitucí TyrB26→D-AlaB26 (cit.<sup>18</sup>).

V krátkosti se proto zmíníme jen o několika významných poznátcích, které byly vodítkem při konstrukci nových typů

inzulínu. Omezíme se na vlastnosti úseku B20–B30, který hraje významnou roli při interakci s IR. Při interpretaci výsledků se braly v úvahu podmínky sterické, rozdělení nábojů, hydrofobicita, vodíkové a iontové vazby, vliv vody a dynamické vlastnosti jednotlivých úseků řetězce. Tak například bylo prokázáno, že postupná delece čtyř koncových aminokyseliny zbytků řetězce B snižuje aktivitu inzulínu, přičemž takto vzniklé analogy jsou ale stále ještě účinné<sup>42</sup>. Výraznější změna (pokles na 25 % původní aktivity nativního inzulínu) nastává odtržením i TyrB26. Odstranění PheB25 znamená výrazné snížení biologické aktivity inzulínu. Ukazuje se, že v případě substituce Phe v poloze B25, koncová část řetězce B do jisté míry „překáží“ přiblížení inzulínu k aktivní oblasti na povrchu IR, což se projevuje snížením inzulínové aktivity<sup>4</sup>. Výjimku tvoří substituce Tyr místo Phe, kdy se snížení téměř neprojevuje. Podrobnější výsledky pro desptapeptid inzulínu uvádí práce Spodena a spol.<sup>61</sup>, kde se konstatuje, že význam aromatičtějšího kruhu není podstatný, ale naopak je rozhodující planarita postranního řetězce B25 v oblasti atomu C<sub>γ</sub>. V případě delece pěti posledních zbytků v řetězci B se ukazuje, že amidace karboxylové skupiny eliminuje negativní vliv záporného náboje karboxylu a biologická aktivita takto zkráceného analogu (desptapeptid inzulín) zůstává nezměněna<sup>68</sup>.

Odtržení PheB24 prakticky ruší inzulínovou aktivitu, patrně vlivem zhroucení geometrie inzulínové kličky B20–B23, o které se předpokládá, že rozhoduje o styku s IR (cit.<sup>42,69</sup>). Uvedený model předpokládá, že v okamžiku kontaktu inzulínové molekuly s IR dochází k uvolnění oblasti B22–B30 z blízkosti šroubovice B9–B20 a odhalení hydrofobní oblasti lemované oblastí hydrofilní. Smyčka beta tvořená B20–B23 přitom zajišťuje otáčivost zbyvajících konce řetězce B (cit.<sup>5,16,19,69,70</sup>).

Podrobnému studiu byl podroben analog Lispro (Humalog). Prolin v inzulínu má v poloze B28 stabilizující vliv na interakci monomer–monomer a předpokládá se, že substituce Lys v pozici B28 povede ke sterickým zábránám a zruší se specifický kontakt prolinového kruhu, a tím se zabrání dimeřizaci. Inzulín tak setrvává v monomerní aktivní formě<sup>64</sup>. Humalog se tak stává analogem inzulínu s velmi rychlým účinkem.

## 6. Závěr

Rozsáhlé spektrum dosavadních výsledků dává dílčí informace. Bez znalosti trojrozměrné struktury komplexu inzulínu a jeho homologů s IR je obtížné odpovědět na některé základní otázky týkající se afinity a aktivity inzulínu. Pokrok současných experimentálních postupů a výpočetních metod dává však reálnou naději, že se podaří tyto problémy vyřešit v blízké budoucnosti.

*Práce byla podpořena grantem MPO ČR PZ-22/32 a výzkumným záměrem Z4 055 905.*

## LITERATURA

- Škrha J.: *Lekar. Listy* 10, 11 (2001).
- White M. F., Kahn C. R.: *J. Biol. Chem.* 269, 1 (1994).
- Baker E.: *Philos. Trans. R. Soc. London, Ser. B* 319, 369 (1988).
- Nakagawa S. H., Tager H. S.: *J. Biol. Chem.* 261, 7332 (1986).
- De Meyts P.: *Diabetologia* 37 Suppl. 2, S135 (1994).
- Schaffer L.: *Eur. J. Biochem.* 221, 1127 (1994).
- Luo R. Z., Beniac D. R., Fernandes A., Yip C. C., Ottensmeyer F. P.: *Science* 285, 1077 (1999).
- Ottensmeyer F. P., Beniac D. R., Luo R. Z., Yip C. C.: *Biochemistry* 39, 12103 (2000).
- Slade A., Luh J., Ho S., Yip C. M.: *Biophys. J.* 2001, 80.
- Huml K., Barth T.: *Chem. Listy* 92, 294 (1998).
- Pittman I., Tager H. S.: *Biochemistry* 34, 10578 (1995).
- Shi Y. Y., Yun R. H., van Gunsteren W. F.: *J. Mol. Biol.* 200, 571 (1988).
- Ganong W. F.: *Reviews in Medical Physiology*, 13. vyd. Prentice Hall, Connecticut 1987.
- Adams M.: *Nature* 224, 491 (1969).
- Ciszak E., Smith G. D.: *Biochemistry* 33, 1512 (1994).
- Hua Q. X., Shoelson S. E., Kochoyan M., Weiss M. A.: *Nature* 354, 238 (1991).
- Liang D.: *Sci. China, Ser. B* 35, 418 (1992).
- Kurapat G., De Wolf E., Grotzinger J., Wollmer A.: *Protein Sci.* 6, 580 (1997).
- Brandenburg D.: *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* 107 Suppl. 2, S6 (1999).
- Ullrich A., Gray A., Tam A. W., Yang-Feng T., Tsubokawa M., Collins C., Henzel W., Le Bon T., Kathuria S., Chen E.: *EMBO J.* 5, 2503 (1986).
- House P. D., Weidemann M. J.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 41, 541 (1970).
- Freychet P., Roth J., Neville, Jr. D. M.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 68, 1833 (1971).
- Cuatrecasas P.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 68, 1264 (1971).
- Yip C. C., Yeung C. W., Moule M. L.: *J. Biol. Chem.* 253, 1743 (1978).
- Ebina Y., Ellis L., Jarnagin K., Edery M., Graf L., Clauser E., Ou J. H., Masiarz F., Kan Y. W., Goldfine I. D.: *Cell* 40, 747 (1985).
- Ullrich A., Bell J. R., Chen E. Y., Herrera R., Petruzzelli L. M., Dull T. J., Gray A., Coussens L., Liao Y. C., Tsubokawa M.: *Nature* 313, 756 (1985).
- Bajaj M., Waterfield M. D., Schlessinger J., Taylor W. R., Blundell T.: *Biochim. Biophys. Acta* 916, 220 (1987).
- Garrett T. P., McKern N. M., Lou M., Frenkel M. J., Bentley J. D., Lovrecz G. O., Elleman T. C., Cosgrove L. J., Ward C. W.: *Nature* 394, 395 (1998).
- Schaefer E. M., Erickson H. P., Federwisch M., Wollmer A., Ellis L.: *J. Biol. Chem.* 267, 23393 (1992).
- Woldin C. N., Hing F. S., Lee J., Pilch P. F., Shipley G. G.: *J. Biol. Chem.* 274, 34981 (1999).
- Tulloch P. A., Lawrence L. J., McKern N. M., Robinson C. P., Bentley J. D., Cosgrove L., Ivancic N., Lovrecz G. O., Siddle K., Ward C. W.: *J. Struct. Biol.* 125, 11 (1999).
- De Meyts P., Wallach B., Christoffersen C. T., Urso B., Gronskov K., Latus L. J., Yakushiji F., Ilondo M. M., Shymko R. M.: *Horm. Res.* 42, 152 (1994).
- Fabry M., Schaefer E., Ellis L., Kojro E., Fahrenholz F., Brandenburg D.: *J. Biol. Chem.* 267, 8950 (1992).
- Casasnovas J. M., Springer T. A., Liu J. H., Harrison S. C., Wang J. H.: *Nature* 387, 312 (1997).
- Copie V., Tomita Y., Akiyama S. K., Aota S., Yamada



- K. M., Venable R. M., Pastor R. W., Krueger S., Torchia D. A.: *J. Mol. Biol.* 277, 663 (1998).
36. Marino-Buslje C., Mizuguchi K., Siddle K., Blundell T. L.: *FEBS Lett.* 441, 331 (1998).
  37. Hubbard S. R., Wei L., Ellis L., Hendrickson W. A.: *Nature* 372, 746 (1994).
  38. Hubbard S. R.: *EMBO J.* 16, 5572 (1997).
  39. Ginalski K., Wojciechowski M., Lesyng B.: *Acta Biochim. Pol.* 46, 601 (1999).
  40. Taylor S. I., Cama A., Accili D., Barbetti F., Quon M. J., de la Luz S. M., Suzuki Y., Koller E., Levy-Toledano R., Wertheimer E.: *Endocr. Rev.* 13, 566 (1992).
  41. Pullen R. A., Lindsay D. G., Wood S. P., Tickle I. J., Blundell T. L., Wollmer A., Krail G., Brandenburg D., Zahn H., Gliemann J., Gammeltoft S.: *Nature* 259, 369 (1976).
  42. Mirmira R. G., Nakagawa S. H., Tager H. S.: *J. Biol. Chem.* 266, 1428 (1991).
  43. Yip C. C., Hsu H., Patel R. G., Hawley D. M., Maddux B. A., Goldfine I. D.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 157, 321 (1988).
  44. Yip C. C., Grunfeld C., Goldfine I. D.: *Biochemistry* 30, 695 (1991).
  45. Rafaeloff R., Patel R., Yip C., Goldfine I. D., Hawley D. M.: *J. Biol. Chem.* 264, 15900 (1989).
  46. Gustafson T. A., Rutter W. J.: *J. Biol. Chem.* 265, 18663 (1990).
  47. Wedekind F., Baer-Pontzen K., Bala-Mohan S., Choli D., Zahn H., Brandenburg D.: *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* 370, 251 (1989).
  48. Grant K. I., von Holt C.: *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* 368, 239 (1987).
  49. Trethewey J.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 7, 189 (1989).
  50. Gammeltoft S., Gliemann J.: *Biochim. Biophys. Acta* 320, 16 (1973).
  51. Pedersen O., v knize: *Handbook on Receptor Research, Insulin Receptor* (De Pirro R., Lauro R., ed.), str. 83. Acta Medica, Roma 1985.
  52. Macho L., Fickova M., Zorad S.: *Endocr. Regulations* 31, 89 (2001).
  53. Schluter K., Peterson K. G., Schuttler A., Brandenburg D., Kerp L., v knize: *Insulin, Chemistry, Structure and Function of Insulin and Related Hormones* (Brandenburg D., Wollmer A., ed.), str. 433. W. de Gruyter, Berlin-New York 1980.
  54. Gammeltoft S., Kristensen L. O., v knize: *Handbook on Receptor Research, Insulin Receptor* (De Pirro R., Lauro R., ed.), str. 57. Acta Medica, Roma 1985.
  55. Mirmira R. G., Tager H. S.: *J. Biol. Chem.* 264, 6349 (1989).
  56. Pezzino V., Vigneri R., v knize: *Handbook on Receptor Research, Insulin Receptor* (De Pirro R., Lauro R., ed.), str. 129. Acta Medica, Roma 1985.
  57. Gavin III. J. R., Gorden P., Roth J., Archer J. A., Buell D. N.: *J. Biol. Chem.* 248, 2202 (1973).
  58. Podlecki D. A., Frank B. H., Kao M., Horikoshi H., Freidenberg G., Marshall S., Ciaraldi T., Olefsky J. M.: *Diabetes* 32, 697 (1983).
  59. Podskalny J. M., Kahn C. R., v knize: *Handbook on Receptor Research, Insulin Receptor* (De Pirro R., Lauro R., ed.), str. 117. Acta Medica, Roma 1985.
  60. Inouye K., Watanabe K., Tochino Y., Kanaya T., Kobayashi M., Shigeta Y.: *Experientia* 37, 811 (1981).
  61. Spoden M., Gattner H. G., Zahn H., Brandenburg D.: *Int. J. Pept. Protein Res.* 46, 221 (1995).
  62. Blundell T. L., Wood S. P.: *Nature* 257, 197 (1975).
  63. Brzovic P. S., Choi W. E., Borchardt D., Kaarsholm N. C., Dunn M. F.: *Biochemistry* 23, 13057 (1994).
  64. Chance R. E., Frank B. H., Radznik J. M., DiMachi R. D.: *Drug Today* 34 Suppl. C, 1 (1998).
  65. Blundell T., Dodson G., Hodgkin D., Mercola D.: *Adv. Protein Chem.* 26, 279 (1972).
  66. Weitzel G., Bauer F. U., Eisele K.: *Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem.* 357, 187 (1976).
  67. Murray-Rust J., McLeod A. N., Blundell T. L., Wood S. P.: *Bioessays* 14, 325 (1992).
  68. Fischer W. H., Saunders D., Brandenburg D., Wollmer A., Zahn H.: *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* 366, 521 (1985).
  69. Nakagawa S. H., Tager H. S.: *Biochemistry* 32, 7237 (1993).
  70. Bao S. J., Xie D. L., Zhang J. P., Chang W. R., Liang D. C.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94, 2975 (1997).

**K. Huml<sup>a</sup>, L. Klasová<sup>a,b</sup>, and J. Barthová<sup>b</sup>** (<sup>a</sup>*Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*, <sup>b</sup>*Faculty of Natural Sciences, Charles University, Prague*): **Insulin/Insulin Receptor Interaction**

An ever-increasing number of patients who suffer from diabetes mellitus is a worldwide problem. Therefore, an extensive study of insulin and its receptor is of high priority of many recent studies. Particularly, a detailed knowledge of the molecular structure and conformational changes of insulin along the metabolic path is very important. The paper shows some interesting features of the topic.



## DEOXYFLUORGLUKOSA, MEZNÍK VE VÝVOJI POZITRONOVÉ EMISNÍ TOMOGRAFIE (HISTORIE JEDNOHO VÝZKUMU)

JOSEF PACÁK<sup>a</sup> a MILOSLAV ČERNÝ<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Katedra učitelství a didaktiky chemie a <sup>b</sup>Katedra organické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Albertov 3, 128 42 Praha 2  
e-mail: pacak@natur.cuni.cz, mila@natur.cuni.cz

Došlo dne 3.1.2002

Klíčová slova: deoxyfluoroglukosa, FDG, <sup>18</sup>FDG, pozitronová emisní tomografie (PET)

Deoxyfluoroglukosa a její osud jsou ukázkou křivolakosti cest vědeckého bádání i důkazem, že základní výzkum může překvapivě přinášet cenné podněty i plody tam, kde se to původně vůbec nepředpokládalo, ba ani předpokládat nemohlo.

Historie 2-deoxy-2-fluor-D-glukosy, zkráceně označované jako deoxyfluoroglukosa (v medicíně se používá zkratka FDG), sahá do padesátých let minulého století, kdy na místo vedoucího katedry organické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy nastoupil tehdejší prezident Československé akademie věd, profesor František Šorm. Ten na katedře ustavil tři pracovní týmy, z nichž jeden dostal za úkol studovat syntézy různě substituovaných monosacharidů. Jeho vedoucím byl Jaroslav Staněk a členy oba autoři tohoto příspěvku; později, koncem šedesátých let, k nim přibylí ještě Tomáš Trnka a Jitka Doležalová.

Při jednom ze zasedání katedry upozornil akademik Šorm na velký význam některých fluorovaných derivátů přírodních sloučenin v medicíně a navrhl naší pracovní skupině, aby zvažila téma zavádění fluorových atomů do molekul cukrů. Tento podnět nás zaujal a od té doby se stal jedním z hlavních pracovních témat naší skupiny.

Na počátku našeho výzkumu byly známy jen tři deoxyfluorderiváty sacharidů, a to 6-deoxy-6-fluor-D-glukosa (cit.<sup>1</sup>), 6-deoxy-6-fluor-D-galaktosa (cit.<sup>2</sup>) a 5-deoxy-5-fluor-D-ribosa (cit.<sup>3</sup>), jejichž strukturální vzorce představuje schéma 1.

Naším cílem ale bylo připravit takový deoxyfluoromonosacharid, který by měl atom fluoru situován, na rozdíl od výše uvedených derivátů, na místě hydroxyskupiny sekundární. Rozhodli jsme se pokusit se o přípravu 2-deoxy-2-fluor-D-glukosy, od níž jsme si slibovali výraznou biologickou účinnost s ohledem na její strukturální podobnost s D-glukosou. Jevilo se totiž jako pravděpodobné, že fluorový atom, vázaný

k atomu uhlíku, se svým objemem, elektronegativitou i schopností vytvářet vodíkové vazby natolik podobá hydroxyskupině, že by se takto pozměněná molekula glukosy měla chovat téměř jako glukosa, a tu v živých systémech simulovat.

Záměna hydroxyskupiny glukosy fluorovým atomem na uhlíkovém atomu C-2 musí rušivě působit na průběh glykolýzy deoxyfluoroglukosy, při níž může dojít nanejvýš k její fosforylaci v poloze C-6 účinkem enzymu hexokinasy za tvorby deoxyfluoroglukosa-6-fosfátu. Z toho pramenil náš další předpoklad, že tento cukerný derivát by v důsledku své výrazné strukturální podobnosti s přírodní glukosou měl sice do buněk vstupovat, ale neměl by jim být zdrojem energie. A protože právě nádorové buňky mají, vzhledem ke svému rychlému růstu, velkou spotřebu glukosy, dalo se očekávat, že by deoxyfluoroglukosa mohla jevit kancerostatický účinek tím, že by tyto buňky zahlcovala, aniž by je vyživovala. Tak by měla brzdit, nebo dokonce zastavovat jejich růst.

Tato myšlenka autory článku inspirovala k tomu, že se rozhodli tuto sloučeninu syntetizovat, což se po zdolání nemalých úskalí podařilo v druhé polovině roku 1968. Vycházeli jsme přitom z 1,6-anhydro-β-D-glukopyranosy, získané pyrolýzou škrobu. Sedmistupňovou syntézou (schéma 2), jejímž klíčovým krokem bylo stereoselektivní štěpení epoxidového kruhu již dříve popsáné 1,6:2,3-dianhydro-4-O-benzyl-β-D-mannopyranosy<sup>3</sup> hydrogenfluoridem draselným ve vroucím ethan-1,2-diolu, jsme ji získali ve formě bezbarvých, sladce chutnajících krystalů, jejichž strukturu jsme potvrdili pomocí <sup>1</sup>H NMR.

Předběžnou zprávu o této vůbec první syntéze 2-deoxy-2-fluor-D-glukosy jsme uveřejnili<sup>4</sup> v roce 1969, podrobnější později<sup>5</sup> v roce 1972.

Často se stává, že se ve světě vědy pracuje na témž problému současně na několika místech. A tak ze zcela stejných důvodů jako my, tedy pro předpokládané kancerostatické účinky, se pokoušela o syntézu téže látky i velká skupina pracovníků v londýnském Chester Beatty Research Institute (Institute of Cancer Research, Royal Cancer Hospital), vedená prof. A. B. Fosterem. Prováděli ji jinak než my, dokončili ji o několik měsíců později<sup>6</sup>, a k její identifikaci si vyžádali náš vzorek. Světového primátu v její přípravě, o nějž prokazatelně a z pochopitelných důvodů velmi usilovali, tedy ke svému velkému zklamání nedosáhli.

Zkoušky na kancerostatickou účinnost deoxyfluoroglukosy, provedené v Londýně, bohužel ukázaly, že nádorové buňky touto sloučeninou ničeny nejsou. Přesto naše představa o přednostním pronikání deoxyfluoroglukosy do nádorových buněk, závislých na rychlém přísunu glukosy, a o jejím hromadění

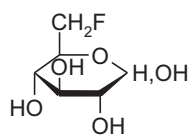
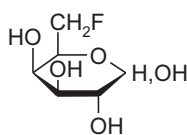
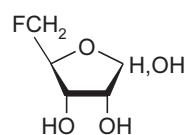


Schéma 1 6-deoxy-6-fluor-D-glukosa



6-deoxy-6-fluor-D-galaktosa



5-deoxy-5-fluor-D-ribosa

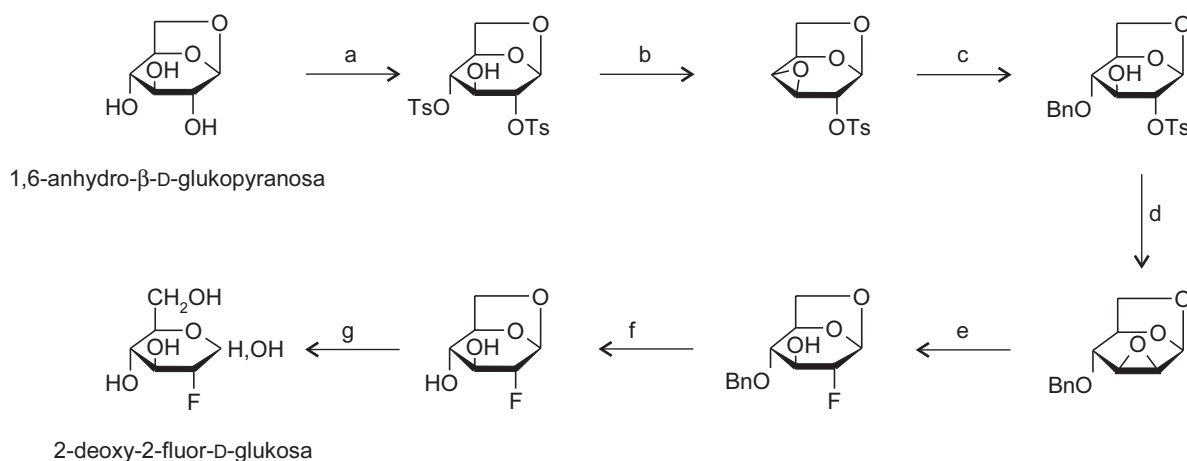


Schéma 2. Ts – tosyl, Bn – benzyl; a – TsCl/py, b – MeO<sup>-</sup>, c – BzOH/*p*-TsOH, d – MeO<sup>-</sup>, e – KHF<sub>2</sub>/ED/200 °C, f – H<sub>2</sub>/Pd/C, g – 1% *p*-TsOH/H<sub>2</sub>O/165 °C

v nich byla potvrzena jako správná o necelých deset let později, kdy se stala chemickým základem metabolického zkoumání mozku a jedné z nejdokonalějších diagnostických metod nádorových onemocnění.

Došlo k tomu v polovině sedmdesátých let v USA, kdy skupina vědců v Brookhavenu (National Laboratories, Associate Universities, Upton, NY, U.S.A.) vyvinula<sup>7</sup> pozitronovou emisní tomografii, zkráceně označovanou jako PET. Její princip, velmi zjednodušeně řečeno, spočívá v tom, že registruje přítomnost atomů izotopu, emitujícího pozitrony. Ty se při styku s elektrony ve svém těsném sousedství anihilují a výsledkem této anihilace je vznik  $\gamma$ -záření. Analýzou směru a intenzity jeho paprsků je možno za pomoci velmi složitých detekčních zařízení zjistit rozložení i koncentraci takového izotopu. Jeho atomy musejí být ovšem zabudovány do sloučeniny s vhodnými vlastnostmi. Takovou sloučeninu právě tvůrci PET hledali a narazili přitom na naši práci o deoxyfluoroglukose, která výrazně ovlivnila další vývoj této diagnostické metody. V roce 1976 nás překvapivě navštívil Dr. Drell (Behring Diagnostics, La Jolla, CA, U.S.A.) s žádostí o prodej 10 g deoxyfluoroglukosy, aniž by nám vysvětlil důvod svého zájmu o ni. Tím, že jsme jeho žádosti vyhověli, se deoxyfluoroglukosa stala dostupnou i výše zmíněné skupině badatelů, kteří si na ní mohli ověřit, že tato sloučenina má potřebné vlastnosti pro pozitronovou emisní tomografii, tedy že snadno proniká do buněk, hromadí se v nich, ale na rozdíl od glukosy se neštěpí (nepodléhá glykolýze), a neposkytuje jim tedy energii, a konečně, že je možné zavést do ní pozitrony emitující atom radioizotopu <sup>18</sup>F s vhodným poločasem rozpadu (110 minut). To je vedlo k rozhodnutí syntetizovat deoxyfluoroglukosu nesusoucí právě tento radioizotop. Syntézu takovéto sloučeniny, totiž 2-deoxy-2-[<sup>18</sup>F]fluor-D-glukosy, uskutečnil v roce 1978 Ido se svými spolupracovníky<sup>8</sup>. Je třeba říci, že při syntéze postupovali jinak než my: pro poměrně krátký poločas rozpadu vnašeli radioaktivní fluor do molekuly cukru až v její závěrečné fázi. V současnosti se výroba 2-deoxy-2-[<sup>18</sup>F]fluor-D-glukosy provádí i u nás, a to na dvou pracovištích, v Ústavu jaderné fyziky AV ČR v Řeži a v Ústavu jaderného výzkumu Řež a.s. Pracovní postup spočívá v nukleofilní substituci 1,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-2-*O*-trifluormethylsulfonyl- $\beta$ -D-mannosy působením iontů <sup>18</sup>F<sup>-</sup> a následné hydrolyze<sup>9</sup>.

Vzhledem k mimořádné strukturální podobnosti glukosy a deoxyfluoroglukosy bylo prokázáno, že tam, kam vstupuje glukosa, činí tak i deoxyfluoroglukosa, jen s tím rozdílem, že se nemetabolizuje, a tedy se v buňkách pouze hromadí. Sledováním její koncentrace, zobrazené barevnými snímky fiktivních, vhodně zvolených řezů zkoumanými tkáněmi nebo orgány, lze tedy zpětně usuzovat na intenzitu spotřeby glukosy. Použitím značené deoxyfluoroglukosy v pozitronové emisní tomografii vznikla metoda, označovaná jako FDG-PET, využívající sledování distribuce glukosy v různých orgánech, jíž se převážně používá k odhalování nádorového bujení, zejména v jeho nejranějších stádiích, kdy jinými metodami není ještě zjištělné, a ke sledování úspěšnosti jeho léčení. Slouží také k mapování fyziologických i patologických dějů probíhajících v mozku (mozek je za normálních okolností vyživován výlučně glukosou, a proto ji intenzivně metabolizuje) a je např. cenným pomocníkem neurochirurgů při lokalizování chorobných ložisek v mozku (nádory, epilepsie). Uplatňuje se i při diagnóze Alzheimerovy choroby. Významná je rovněž pro hodnocení metabolických poměrů při infarktu myokardu.

S aplikací této metody na psy začali Gallagher a spol.<sup>10</sup>, do humánní medicíny ji uvedli Phelps a spol.<sup>11</sup>, k prvním studiím různých mozkových funkcí posloužila Reivichovi a spol.<sup>12</sup> a Phelpsovi a spol.<sup>13</sup>, do onkologie ji zavedli Som a spol.<sup>14</sup>

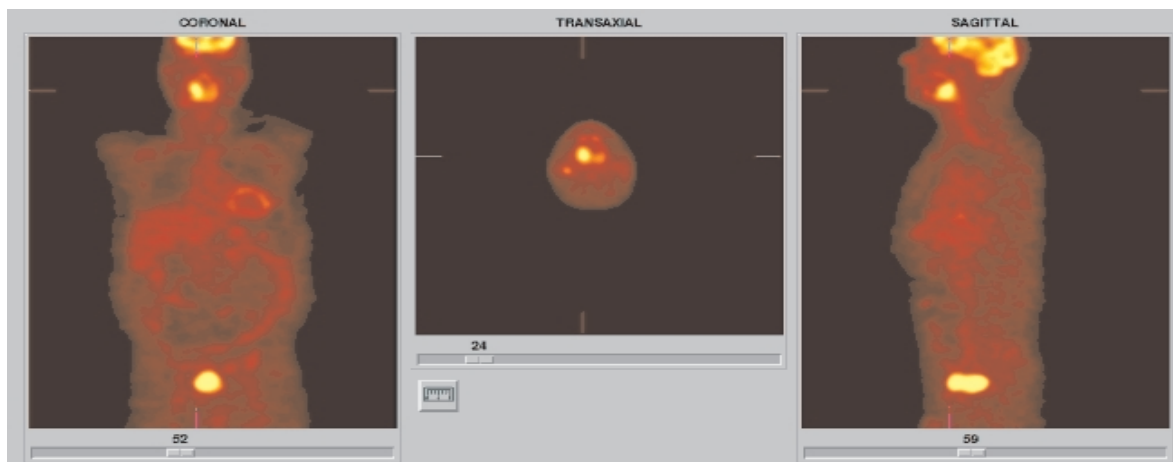
Badatelé, kteří se o vznik a využití pozitronové emisní tomografie v lékařství zasloužili zejména, američtí profesori Kuhl z univerzity v Michiganu a Phelps<sup>15</sup> z kalifornské univerzity v Los Angeles, byli v roce 2001 oceněni za svůj objev jednou z nejprestižnějších cen světové medicíny, cenou Charlese F. Ketteringa. Naši syntézu deoxyfluoroglukosy zhodnotil prof. Kuhl takto: „Your 1969 paper was an extremely important contribution that has impacted both neuroscience and cancer diagnosis“.

Metoda FDG-PET se využívá v Praze v PET-Centru v Nemocnici Na Homolce, dobudovaném v roce 1999 a vedeném MUDr. O. Bělohávkem. Slouží jak k diagnostice, tak i k výzkumu onkologických onemocnění<sup>16</sup>. Počet vyšetřených pacientů přesáhl v roce 2001 již tři tisíce. Je třeba konstatovat, že zatímco ve vyspělých zemích připadá na milion obyvatel jedno PET-centrum, u nás je to zatím desetkrát méně. V Ja-

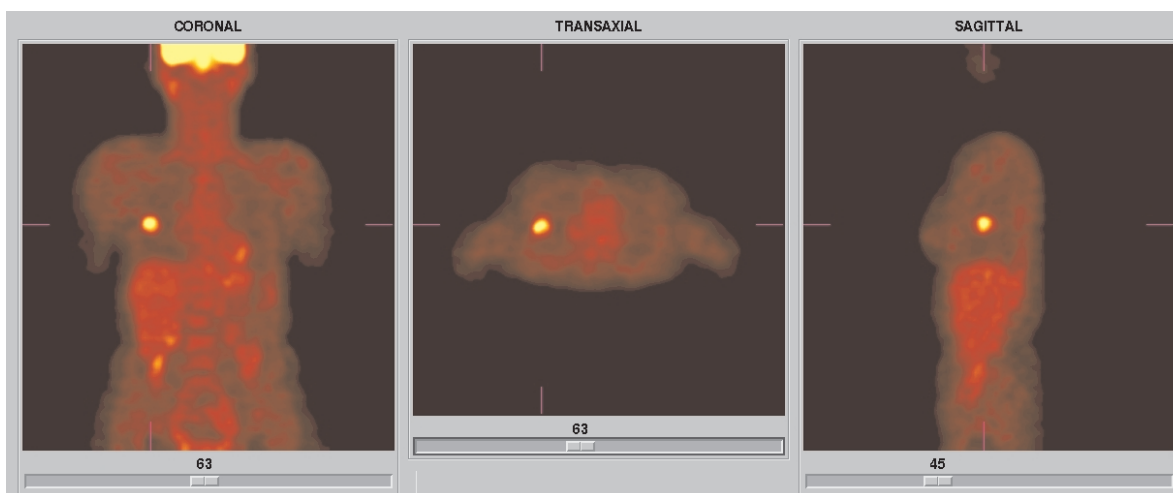
ponsku se metody FDG-PET užívá k preventivním prohlídkám obyvatel.

Závěrem můžeme konstatovat, že naše původní představa

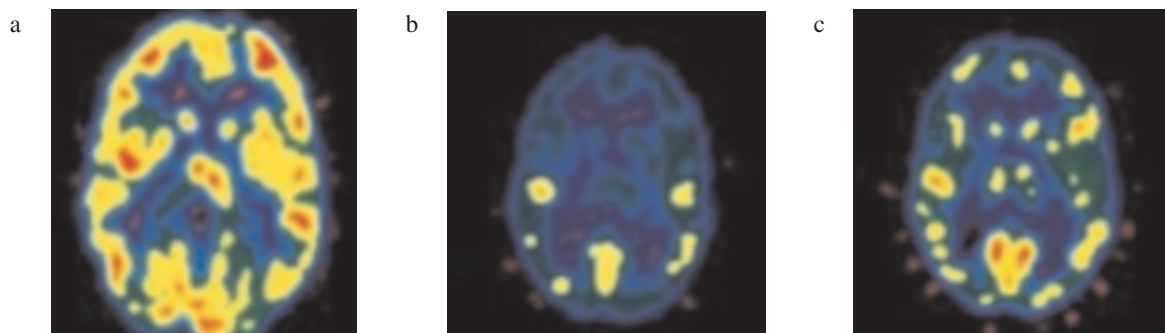
deoxyfluoroglukosy jako sloučeniny dokonale simulující glukosu a stejně jako ona rychle vstupující do buněk náročných na přísun glukosy, se ukázala jako správná, a výrazně ovlivnila



Obr. 1. Zobrazení zhoubného nádoru hltanu. Tři navzájem kolmé tomografické řezy, získané metodou FDG-PET. Vysoká koncentrace FDG v mozku je v souladu s intenzivní fyziologickou spotřebou glukosy, zobrazení močového měchýře odpovídá vylučování FDG močí. Maximální koncentrace FDG je vyjádřena žlutou barvou. Jiné zobrazovací metody nádor vůbec neodhalily.



Obr. 2. Zobrazení zhoubného nádoru v pravé plicí. Podrobnější popis obrázku je obdobou popisu uvedeného u obr. 1



Obr. 3. Změny intenzity metabolismu glukosy; tomografický řez mozku před aplikací kokainu (a), po 10 dnech (b) a po 100 dnech (c) po užití drogy. Intenzita metabolismu glukosy vyjádřená koncentrací FDG po podání drogy prudce klesá a ani po 100 dnech se plně neobnovuje. Nejintenzivnější metabolické pochody vyjadřuje červená, resp. žlutá barva

začátek vývoje převratné lékařské diagnostické metody FDG-PET tím, že se uplatnila jako její chemický princip.

Nelze vyloučit, že i neznačená, námi připravená deoxyfluoroglukosa, s ohledem na svou strukturní podobnost s glukosou a současně metabolickou odlišnost a možnost její detekce pomocí  $^{19}\text{F}$  NMR (cit.<sup>17,18</sup>), sehraje v budoucnu významnou úlohu také v jiných biochemických či lékařských disciplínách.

Obrázky 1–3 ukazují příklady praktické aplikace metody FDG-PET.

*Za poskytnutí prvních dvou snímků autoři děkují MUDr. O. Bělohávkovi z PET-Centra, Nemocnice Na Homolce, za třetí snímek prof. J. S. Fowlerové z Brookhaven National Laboratories, New York, U.S.A.*

#### LITERATURA

- Helferich B., Gnüchtel A.: Ber. Dtsch. Chem. Ges. 74, 1035 (1941).
- Taylor N. F., Kent P. W.: J. Chem. Soc. 1958, 872.
- Trnka T., Černý M.: Collect. Czech. Chem. Commun. 36, 2216 (1971).
- Pacák J., Točík Z., Černý M.: Chem. Commun. 1969, 77.
- Pacák J., Podešva J., Točík Z., Černý M.: Collect. Czech. Chem. Commun. 37, 2589 (1972).
- Adamson J., Foster A. B.: Chem. Commun. 1969, 309.
- Phelps M. E., Hoffman E. J., Mullani N. A., Ter-Pogossian M. M.: J. Nucl. Med. 16, 210 (1975).
- Ido T., Wan C. N., Casella V. R., Fowler J. S., Wolf A. P., Reivich M., Kuhl D. E.: J. Labelled Compd. Radiopharm. 14, 175 (1978).
- Toorongian S. A., Mulholland G. K., Jewett D. M., Bachelor M. A., Kilbourn M. R.: Nucl. Med. Biol. 17, 273 (1990).
- Gallagher B. M., Ansari A., Atkins H., Casella V., Christman D. R., Fowler J. S., Ido T., MacGregor R., Som P., Wan C. N., Wolf A. P., Kuhl D. E., Reivich M.: J. Nucl. Med. 19, 1154 (1978).
- Phelps M. E., Hoffman E. J., Selin C., Huang S. C., Kuhl D. E.: J. Nucl. Med. 19, 1311 (1978).
- Reivich M., Kuhl D. E., Wolf A. P.: Circ. Res. 44, 127 (1979).
- Phelps M., Huang S.-C., Hoffman E., Selin C., Kuhl D.: Ann. Neurol. 6, 371 (1979).
- Som P., Atkins H. L., Bandyopadhyay D.: J. Nucl. Med. 21, 670 (1980).
- Phelps M. E.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 97, 9226 (2000).
- Bělohávek O., Táborská K., Šimonová K., Janeba D.: Prakt. Lekar 80, 503 (2000).
- Nakada T., Kwee I., Griffey B. V., Griffey R. H.: Magn. Reson. Imaging 6, 633 (1988).
- Wiebe L. I.: J. Nucl. Med. 42, 1679 (2001).

**J. Pacák<sup>a</sup> and M. Černý<sup>b</sup>** (<sup>a</sup>*Department of Teaching Chemistry and* <sup>b</sup>*Department of Organic Chemistry, Faculty of Sciences, Charles University, Prague*): **Deoxyfluoroglucose, a Milestone in the Development of Positron Emission Tomography (History of a Research)**

The history and individual steps of the first successful synthesis of 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose are described. In many respects, this substance perfectly imitates the behavior of naturally occurring glucose: e.g., the rate of incorporation into the cells rapidly consuming glucose (such as the cerebral, cardiac or tumorous ones) is almost the same in both cases. Nevertheless, due to the presence of a fluoro atom at C-2, the fluorinated derivative does not undergo glycolysis and, therefore, accumulates (in the form of its 6-phosphate) in the cells. Thanks to these properties of the substance, eight years after the synthesis, its  $^{18}\text{F}$ -labeled derivative has been successfully used in positron emission tomography (PET), as applied to the exploration of physiological and pathophysiological functions of the brain and, above all, in clinical oncology. Thus, early stages of tumor growth can be detected and malignity of the tumor can be revealed even in those cases, which are not detectable by other imaging methods.



## LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

### OPTIMALIZACE PODMÍNEK STANOVENÍ SELENU V KREVNÍM SÉRU ATOMOVOU ABSORPČNÍ SPEKTROMETRIÍ

DAVID MILDE<sup>a</sup>, MARKÉTA ŠOBROVÁ<sup>a</sup>,  
JINDŘICH MACHÁČEK<sup>b</sup> a VÁCLAV STUŽKA<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého, Tř. Svobody 8, 771 46 Olomouc, <sup>b</sup>Onkologická klinika, Fakultní nemocnice Olomouc, I. P. Pavlova 6, 775 20 Olomouc

e-mail: david.milde@upol.cz

Došlo dne 26.VI.2001

Klíčová slova: atomová absorpční spektrometrie, selen, krevní sérum, optimalizace podmínek stanovení

### Úvod

Atomová absorpční spektrometrie zaujímá mezi metodami prvkové stopové analýzy stále významné místo. Velká část laboratoří zabývajících se analýzami klinických materiálů používá právě tuto instrumentální techniku. Tato práce srovnává možnosti stanovení selenu jednotlivými atomizačními technikami v mineralizovaných a také pouze ve zředěných vzorcích krevního séra.

Selen je esenciální prvek charakteristický poměrně úzkým rozmezím mezi jeho nezbytností pro organismus a jeho toxicitou. Nejběžnější sloučeninou přítomnou v krevním séru člověka a savců je selenocystein. Ten zároveň se selenomethioninem a dalšími organoselenovými sloučeninami vzniká v rostlinách a do živočišného organismu se dostává stravou. Ultramikrofiltrační studie ukázaly, že většina selenu v séru (asi 95 %) je vázána do proteinů s vysokou molekulovou hmotností, včetně lipoproteinů s nízkou a velmi nízkou hustotou<sup>1</sup>. Je známo asi 35 selenoproteinů, z nichž některé mají významné enzymové funkce. Nedostatek selenu je u člověka i u zvířat spojován s různými onemocněními. Popisovány jsou souvislosti mezi obsahem selenu v organismu a nádorovými a kardiovaskulárními onemocněními a také cukrovkou a hepatopatií<sup>2</sup>. Selen může být začleňován do proteinů v našem organismu dvojnásobně<sup>3</sup>. Může být začleňován nespecificky jako selenomethionin ze stravy, který není u savců rozlišován od methioninu. Tento proces je náhodný a nastává jen při vysokých množstvích přijímaného selenomethioninu. Druhou možností je specifické začleňování selenu ve formě selenocysteinu. Tomuto ději předchází katabolizace selenových sloučenin na selan, který je přeměňován přes selenofosfát na selenocystein. Vylučování selenu z organismu spočívá v methylovaní selanu na methylselenol a dále na těkavý dimethylselen, který je vylučován dýcháním, a ve vodě rozpustný trimethylselenoniový ion, který je vylučován močí.

### Experimentální část

#### Chemikálie

Kalibrační roztoky selenu byly připravovány postupným ředěním zásobního roztoku o koncentraci  $1,000 \pm 0,002 \text{ g.l}^{-1}$  (Analytika Praha). Pro přímé ředění vzorků byl používán 0,1% roztok Tritonu X-100 (p.a., Merck) v 0,1% HNO<sub>3</sub> (superpure, Carlo Erba). Pro přípravu modifikátorů matrice byly používány roztoky: Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> o koncentraci Pd  $1 \text{ g.l}^{-1}$ , Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O o koncentraci  $1 \text{ g.l}^{-1}$ , Ni(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> o koncentraci  $10 \text{ g.l}^{-1}$  a 1% askorbová kyselina (vše Analytika, Praha). Při analýzách byla používána voda čištěná demineralizací (Elga System, Velká Británie). Kyselina chloristá (p.a., Veb Laborchemie, Německo) a kyselina sírová (p.a., Lachema) sloužily jako součást mineralizační směsi. Při stanovení selenu s využitím hydridové generace byla používána kyselina chlorovodíková k přípravě vzorků (Analpure SD, Analytika) i k přípravě kalibračních roztoků (p.a., Lachema). Roztok NaBH<sub>4</sub> (app. 98%, Sigma) stabilizovaný hydroxidem sodným (p.a., Lachema) byl použit k převedení analytu na plynný hydrid. Pro ověřování správnosti byl používán referenční materiál Seronorm™ Trace Elements Serum, batch 704121 (Nycomed Pharma) s doporučenou hodnotou koncentrace selenu  $80 \mu\text{g.l}^{-1}$  a selenomethionin (97%, Aldrich).

#### Použité přístroje a podmínky měření

Ke stanovení selenu byl použit atomový absorpční spektrometr Avanta Σ (GBC, Austrálie) vybavený elektrotermickým atomizátorem GF 3000, automatickým podavačem vzorků PAL 3000, kontinuálním hydridovým generátorem HG 3000 s elektrickým ohřevem křemenné trubice a korektorem pozadí s deuteriovou výbojkou.

Jako zdroj záření byla používána selenová superlampa (žhavicí proud 18 mA), vlnová délka 196 nm, šířka štěrbin 1 nm, redukovaná výška štěrbin pro elektrotermickou atomizaci a normální výška pro plamenovou a hydridovou atomizační techniku.

K analýzám sloužila grafitová kyveta s předinstalovanou pyroplatformou (RMI, Česká republika). Ke stanovení koncentrace byla použita metoda standardních přídávků.

Pro generování selanu byl použit 0,6% roztok NaBH<sub>4</sub> v 0,6% NaOH. Koncentrace kyseliny chlorovodíkové, použité ve vzorcích i kalibračních roztocích, byla  $2 \text{ mol.l}^{-1}$ . K určení koncentrace selenu byla použita metoda kalibrační přímky (vhodnost přímkové závislosti byla ověřena statistickým testem).

K rozkladu vzorků krevního séra sloužil mikrovlnný mineralizátor BM-1S (Plazmatronika, Polsko).

Detekční meze byly stanoveny přímou metodou analytu a metodou K\*sigma v programu QC Expert 2.5 (Trilobyte, Česká republika).

#### Pracovní postup

Vzorky rozmrazeného krevního séra byly nejprve homogenizovány protřepáním po dobu asi 30 s. Pro přímou analýzu



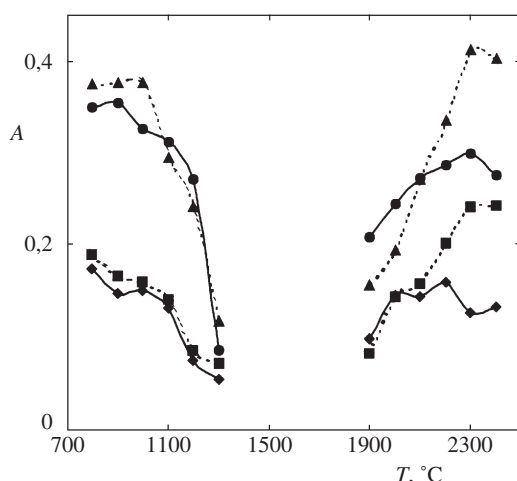
nerozložených vzorků bylo sérum ředěno v poměru 1:2 roztokem Tritonu X-100. Pro mikrovlnný rozklad byl do mineralizačních nádobek odměřen alespoň 1 ml vzorku (podle objemu dodaného vzorku) a 2 až 3 ml mineralizační směsi. Pracovní program mineralizátoru měl následující kroky: 60 s výkon 50 %, 30 s 0 %, 120 s 70 %, 30 s 0 %, 120 s 70 %, 30 s 0 % a 300 s 100 %. Mineralizát byl převeden do teflonových kelímků a odpařen téměř dosucha. K odparku bylo odměřeno známé množství demineralizované vody. Pro stanovení selenu metodou hydridové generace byla dále prováděna předredukce selenu zahříváním 2 ml vzorku se 2 ml koncentrované HCl (výsledná koncentrace HCl je asi  $5 \text{ mol.l}^{-1}$ ) na vodní lázni po dobu 30 minut při  $80^\circ\text{C}$ .

## Výsledky a diskuse

Hladina selenu v krevním séru se obvykle pohybuje v rozmezí  $70\text{--}140 \mu\text{g.l}^{-1}$ , u jedinců s nádorovým či kardiovaskulárním onemocněním bývá hladina selenu snížena. Tyto údaje vylučují použití ke stanovení plamenovou atomizační technikou (složení plamene acetylen–vzduch), u níž byla nalezena hodnota meze detekce  $0,45 \text{ mg.l}^{-1}$  přímou metodou analytu a  $0,35 \text{ mg.l}^{-1}$  metodou K\*sigma.

### Elektrotermická atomizace (ETA)

Elektrotermická atomizace umožňuje analýzu mineralizovaných i nerozkládaných vzorků krevního séra. Z těchto dvou matric je obtížnější analýza nerozložených vzorků. Byly prováděny analýzy třikrát ředěných vzorků s použitím různých modifikátorů. Sérum je matrice, která obsahuje řadu organických látek, a proto po analýze zůstával na platformě kyvety zbytkový uhlík, který bylo nutno mechanicky odstraňovat. Tomuto problému lze předejít zaváděním vzduchu nebo kyslíku do kyvety ve fázi pyrolýzy, takže dojde ke spálení proteinů a proběhne odstranění uhlíku ve formě jeho oxidů. Pro odstranění uhlíku je kritická volba teploty. Reakce vyžaduje



Obr. 1. Rozkladné a atomizační křivky selenu v krevním séru: ●  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ; plocha píku, ◆  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ; plocha píku, ▲  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ; výška píku, ■  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ; výška píku

teplotu asi  $400^\circ\text{C}$ , ale vzhledem k tomu, že platforma je ohřívána pouze radiací, může být její teplota značně nižší než teplota kyvety, a je proto vhodné nastavit teplotu na hodnotu  $700\text{--}800^\circ\text{C}$ . Ukázalo se, že při použití vzduchu ve fázi pyrolýzy dochází k úplnému odstranění organických látek, takže na platformě nezůstává zbytkový uhlík, a je tedy možné provést řadu analýz za sebou, aniž by bylo nutné vyjímat kyvetu z přístroje a mechanicky ji čistit. Ani při opakovaných analýzách nebylo zaznamenáno snížení životnosti kyvety ve srovnání s analýzami bez použití vzduchu.

Pro určení optimálních podmínek stanovení selenu elektrotermickou atomizací byly sledovány průběhy rozkladných a atomizačních křivek (obr. 1). Dále byl sledován vliv použitého modifikátoru matrice a jeho složení a také zavádění

Tabulka I

Teplotní program pro stanovení selenu

Krok	Teplota [ $^\circ\text{C}$ ]	Doba [s]		Plyn
		nárůstu	držení	
1	90	1	5	–
	nástřik			
2	130	25	25	argon
3	250	20	10	argon
4	340	10	5	argon
5	700	10	10	vzduch
6	700	0	15	argon
7	$1100^a/1000^b$	2	15	argon
8	2300	0,7	3	–
9	2650	1	3	argon

<sup>a</sup> Pro modifikátor  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ; <sup>b</sup> pro modifikátor  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$

Tabulka II

Teplotní program pro stanovení selenu s použitím redukovaného paladia jako modifikátoru

Krok <sup>a</sup>	Teplota [ $^\circ\text{C}$ ]	Doba [s]		Plyn
		nárůstu	držení	
1	90	1	5	–
	nástřik $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$			
2	120	10	10	argon
	nástřik vzorku a askorbové kys.			
3	130	25	25	argon
4	250	20	10	argon
5	340	10	5	argon
6	1100	2	15	argon
7	2300	0,7	3	–
8	2650	1	3	argon

<sup>a</sup> Průběhy rozkladné a atomizační křivky nebyly sledovány; pro používaný spektrometr byly teploty upraveny podle Ursinovy a Hladíkové<sup>9</sup>

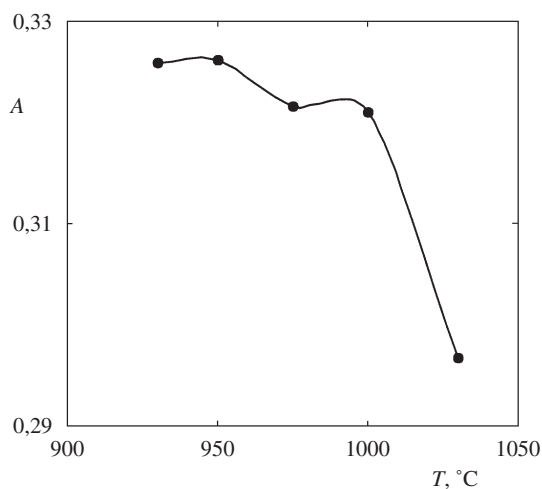
vzduchu do kyvety ve fázi pyrolýzy. Optimalizované teplotní programy jsou uvedeny v tabulkách I a II.

Při používání směsného modifikátoru  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  dochází podle Dočekalové a spol.<sup>4</sup> k optimální stabilizaci selenu, je-li poměr látkových množství paladia a selenu asi 3000:1 a hořčíku a selenu asi 30 000:1. To znamená, že na 1 ng Se, což je přibližně množství, které je při analýze dávkováno do grafitové kyvety, připadají přibližně 4  $\mu\text{g}$  Pd a 9  $\mu\text{g}$  Mg (resp. 100 mg  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ). Při určení optimální koncentrace modifikátoru byla prováděna analýza s použitím roztoků směsného modifikátoru o měnícím se obsahu obou složek a byl pozorován tvar atomizačního píku. Bylo-li do kyvety dávkováno 2,5  $\mu\text{g}$  Pd, pík vykazoval dvě maxima, což bylo pravděpodobně způsobeno přítomností dvou různých chemických forem selenu před atomizací. Při zvyšování atomizační teploty se první maximum snižovalo a obě maxima se přibližovala. Změna doby pyrolýzy v rozsahu 10–30 s neměla na tvar signálu žádný vliv. Při zvýšení množství dávkovaného paladia na 4  $\mu\text{g}$  a více už dvě maxima pozorována nebyla, takže toto množství paladia se zdá být pro účinnou stabilizaci selenu dostačující. Při zvyšování obsahu hořčíku ve směsném modifikátoru nebyl ovlivněn tvar či plocha píku, pouze silně rostlo pozadí a pík se posouval k vyšším hodnotám času. To je v souladu s výsledky Shana a Wena<sup>5</sup>, kteří srovnávali účinek samotného paladia s modifikátory  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  a paladium + askorbová kyselina a došli k závěru, že přidání dusičnanu hořečnatého k paladiu zvyšuje pozadí pro modifikátor ve srovnání se samotným paladiem. Bylo-li dávkováno 100  $\mu\text{g}$   $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  a více, zůstával na koncích kyvety bílý povlak, který bylo nutné mechanicky odstraňovat. Dostal-li se tento povlak do optické dráhy paprsku, docházelo k prudkým změnám hodnot absorpance. Přídavek určitého množství dusičnanu hořečnatého je však žádoucí, protože dusičnany oxidují organickou matici vzorku, a tak zvyšují její těkavost. Jako vhodný byl zvolen roztok modifikátoru obsahující 0,95  $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$  Pd a 10  $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$   $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , což odpovídá dávkovaným množstvím 4,75  $\mu\text{g}$  Pd a 50  $\mu\text{g}$   $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (tj. 4,75  $\mu\text{g}$  Mg). Po vyhodnocení kalibrační křivky byly určeny metodou  $K \cdot \sigma$  a přímou metodou analytu hodnoty meze detekce (6,29 a 12,48  $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ ) a meze stanovitelnosti (12,48 a 17,95  $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ ). Opakovanou analýzou referenčního materiálu byla získána průměrná hodnota koncentrace 79,22  $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$  Se. Určení návratnosti bylo provedeno jednak přidávkem selenu v anorganické formě (114,1 %) a také přidávkem selenomethioninu (93,1 %). Nalezené hodnoty návratnosti ukazují na to, že při analýze nedochází ke ztrátám selenu. Při určení opakovatelnosti byla získána relativní směrodatná odchylka 9,6 % pro 5 opakování. Vzhledem k faktu, že byl stanovován stopový prvek ve složité matici, lze přesnost měření považovat za přijatelnou.

Druhým používaným modifikátorem byla směs dusičnanů nikelnatého a hořečnatého v poměru 1:9. Během pyrolýzy byl do kyvety opět zaváděn vzduch. Nevýhodou tohoto modifikátoru je dávkování poměrně velkého množství niklu do kyvety, což komplikuje stanovení tohoto prvku ve stopových koncentracích. Analýzou CRM byla nalezena hodnota 82,56  $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$  Se s opakovatelností 11,3 % pro 5 opakování, takže analýza s použitím tohoto modifikátoru rovněž poskytuje spolehlivé výsledky. Vyhodnocením kalibrační křivky byly získány metodou  $K \cdot \sigma$  a přímou metodou analytu hodnoty meze detekce 4,34 a 8,43  $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$  a stanovitelnosti 6,51 a 11,96  $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ .

Třetím modifikátorem, jehož vhodnost byla studována, bylo paladium redukované askorbovou kyselinou. Roztok dusičnanu paladnatého bylo nutno dávkovat zvlášť a dobře ho vysušit, aby po přidávku askorbové kyseliny vznikly drobné částice redukovaného Pd rovnoměrně rozptýlené po celé ploše platformy. Vzorek séra byl ředěn v poměru 1:2 0,1 % roztokem Triton X-100 ve vodném roztoku askorbové kyseliny. Použitý roztok  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  měl koncentraci 1  $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ . Při použití tohoto modifikátoru byly pozorovány vyšší hodnoty absorpance než s použitím neredukovaného paladia, citlivost byla přibližně 2,8× vyšší než v případě modifikátoru  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ . Vyšší hodnoty absorpance selenu v přítomnosti modifikátoru Pd – askorbová kyselina ve srovnání s dalšími paladiovými modifikátory pozorovaly rovněž Ursínyová a Hladíková<sup>6</sup>. Tato skutečnost potvrzuje závěry kinetické studie Fischera a Rademeyera<sup>7</sup>, podle kterých redukované paladium stabilizuje selen účinněji než  $\text{Pd}^{2+}$ . Nevýhodou použití tohoto modifikátoru je, že během pyrolýzy nelze do kyvety zavádět vzduch. V důsledku toho nemohou být proteiny v séru spáleny a na platformě zůstává po analýze zbytkový uhlík, který je nutné mechanicky odstraňovat. Správnost metody byla ověřena analýzou referenčního materiálu s nalezenou průměrnou hodnotou 80,93  $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$  a opakovatelností 10,9 %. Hodnoty meze detekce (5,13 a 9,82  $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ ) a meze stanovitelnosti (7,70 a 13,83  $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ ) byly určeny metodou  $K \cdot \sigma$  a přímou metodou analytu.

Mineralizace zjednodušuje matici vzorku, proto je možné použít při analýzách mineralizovaných vzorků v grafitové kyvetě zjednodušený teplotní program obdobný analýze vodných vzorků (teplota rozkladu 1100 °C, atomizace 2300 °C, směsný modifikátor  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ), což vede ke zkrácení analýzy. Další výhodou je možnost použít k vyhodnocení výsledků metody kalibrační křivky. Pro ověření správnosti byl analyzován referenční materiál a byla získána hodnota 74,57  $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$  selenu. K získání hodnot meze detekce a meze stanovitelnosti bylo rovněž použito vyhodnocení kalibrační přímky (přímá metoda analytu 10,95 a 14,99  $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ ,  $K \cdot \sigma$  3,10 a 4,65  $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ ). Při analýze mineralizátu je limitujícím faktorem zředění vzorku (resp. objem, na jaký je vzorek doplněn po mineralizaci a odpaření). Jsou-li



Obr. 2. Atomizační křivka pro stanovení selenu hydridovou generací

některé vzorky pocházející např. od osob s nádorovým či kardiovaskulárním onemocněním zředěny více než 5×, může se koncentrace analytu ve vzorku dostat do blízkosti meze detekce.

### Hydridová generace (HG)

Byla optimalizována teplota, na kterou se zahřívá křemenná trubice (obr. 2). Nejvyšší absorpenci vykazovaly měřené roztoky při 950 °C, proto byla tato teplota atomizace hydridu zvolena pro měření.

Není-li po mineralizaci dokonale odpařena ze vzorku kyselina dusičná, dochází při stanovení hydridovou technikou k interferencím způsobeným oxidy dusíku. Pro zjištění vlivu kyseliny dusičné na stanovení byla provedena analýza roztoků s konstantním množstvím selenu a měnícím se množstvím HNO<sub>3</sub> a byla sledována změna absorpance. Bylo zjištěno, že obsah HNO<sub>3</sub> 0,7% způsobuje snížení signálu asi o 25 %, obsah 1,4% snížení o 33 % a 7% HNO<sub>3</sub> v roztoku snižuje signál selenu až o 55 %. Získané výsledky ukazují na nutnost dokonalého odpaření kyseliny dusičné z mineralizátu před stanovením selenu technikou generace hydridů.

Při hydridové generaci způsobují interference rovněž kationty, zvláště jsou-li přítomny v koncentracích nad 100 mg.l<sup>-1</sup>. V krevním séru je poměrně vysoký obsah sodíku (asi 3 g.l<sup>-1</sup>), takže byl testován vliv tohoto prvku na stanovení. Pro určení vlivu sodíku na stanovení byla analyzována sada roztoků s konstantním obsahem selenu a s měnící se koncentrací sodíku. Podobně jako v případě kyseliny dusičné absorpance selenu s rostoucí koncentrací sodíku ve vzorku klesá. Při koncentraci sodíku 100 mg.l<sup>-1</sup> dochází k poklesu absorpance přibližně o 10 %, při koncentraci sodíku 200 mg.l<sup>-1</sup> a vyšší je pokles absorpance asi 20 %.

Referenční materiál byl (stejně jako vzorky séra) mineralizován s použitím mineralizační směsi HNO<sub>3</sub>-HClO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>O (10:1:1) a byla nalezena průměrná hodnota 69,30 μg.l<sup>-1</sup>. Ukázalo se, že pro rozklad vzorku je přínosná přítomnost kyseliny chloristé v mineralizační směsi. Toto zjištění je v souladu s údaji uváděnými Welzem a Sperlingem<sup>8</sup>. Neméně důležitá je důsledná úprava mineralizačního programu, při němž je potřebné dosáhnout úplného rozkladu organické matrice, což se projeví i na zbarvení mineralizátu – mineralizát nezůstává nažloutlý, ale je bezbarvý.

Při analýze referenčního materiálu s mineralizační směsí obsahující kyselinu sírovou bylo nalezené množství selenu přibližně poloviční ve srovnání s doporučovanou hodnotou, což je pravděpodobně způsobeno jednak interferencí síranů (nebylo totiž možné kyselinu sírovou v teflonových kelímcích dokonale odpařit), jednak vznikem sraženiny během odpařování, a na tuto sraženinu se mohl analyt sorbovat.

Návratnost byla testována přidávkem selenu v anorganické formě (112,6 a 102,2 %) a přidávkem selenomethioninu (104,2 a 107,3 %), takže bylo ověřeno, že uvedený mineralizační postup vede k úplnému rozkladu organických látek ve vzorku. Opakovatelnost celého postupu včetně mineralizace byla 14,2 %. Proměřením kalibrační křivky a jejím vyhodnocením byly získány hodnoty meze detekce (přímá metoda analytu 0,54 μg.l<sup>-1</sup>, metoda K\*sigma 0,30 μg.l<sup>-1</sup>) a meze stanovitelnosti (0,77 μg.l<sup>-1</sup> pro přímou metodu analytu a 0,46 μg.l<sup>-1</sup> metodu K\*sigma).

### Závěr

Pro stanovení selenu v nemineralizovaném vzorku technikou ETA-AAS byly testovány tři modifikátory: Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> + Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, Ni(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> + Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> a Pd + askorbová kyselina. Při analýze s prvním modifikátorem bylo zjištěno, že pro účinnou stabilizaci selenu je nutno dávkovat do kyvety alespoň 4 μg Pd a vyhovující množství hexahydrátu dusičnanu hořečnatého je 50 μg. Vhodným modifikátorem se jeví i směs Ni(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> + Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. Při analýze s těmito modifikátory se osvědčilo zavádět do kyvety ve fázi pyrolýzy vzduch. Bez tohoto kroku zůstával na platformě zbytkový uhlík z organické matrice vzorku, kdežto při analýze se zaváděním vzduchu došlo k úplnému odstranění matrice. Předností paladia redukovaného askorbovou kyselinou je vysoká citlivost stanovení; směrnice kalibrační křivky pro tento modifikátor je asi 2,8× vyšší než pro modifikátor Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> + Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. Nevýhodou je ovšem nemožnost zavádění vzduchu ve fázi pyrolýzy (došlo by k oxidaci paladia), takže na platformě zůstal zbytkový uhlík, který bylo nutné mechanicky odstraňovat. Hodnoty meze detekce a opakovatelnosti jsou pro všechny tři modifikátory srovnatelné. Pro stanovení selenu pomocí ETA-AAS v mineralizovaném vzorku je možné zkrátit teplotní program, a tím i dobu analýzy, limitujícím faktorem je zředění vzorku.

Pro stanovení selenu technikou HG-AAS je nutné dosáhnout úplné mineralizace vzorku, což je možné směsí kyseliny dusičné, chloristé a vody. Kromě volby kyselin je důležité optimalizovat mineralizační program. Ve srovnání s technikou elektrotermické atomizace jsou hodnoty meze detekce a stanovitelnosti o řád nižší.

Obě techniky, ETA-AAS i HG-AAS, umožňují správné stanovení stopových koncentrací selenu ve vzorcích krevního séra, což bylo ověřeno analýzou referenčního materiálu a testováním návratnosti.

*Autoři děkují paní Miladě Kapustové za přípravu vzorků krevního séra a Ministerstvu školství České republiky za finanční podporu (v rámci grantu MŠMT 153100013).*

### LITERATURA

1. Marchante-Gayón J. M., Sánchez-Uría J. E., Sanz-Medel A.: *J. Trace Elem. Med. Biol.* 10, 229 (1996).
2. Navarro-Alacrón M., López-Martínez M. C.: *Sci. Total Environ.* 249, 347 (2000).
3. Ip C.: *J. Nutr.* 128, 1845 (1998).
4. Dočekalová H., Dočekal B., Komárek J., Novotný I.: *J. Anal. At. Spectrom.* 6, 661 (1991).
5. Shan X.-Q., Wen B.: *J. Anal. At. Spectrom.* 10, 791 (1995).
6. Ursínyová M., Hladíková V.: *Chem. Listy* 92, 495 (1998).
7. Fischer J. L., Rademeyer C. J.: *Spectrochim. Acta, Part B* 53, 549 (1998).
8. Welz B., Sperling M.: *Atomic Absorption Spectrometry*. Wiley-VCH, Weinheim 1999.

**D. Milde<sup>a</sup>, M. Šobrová<sup>a</sup>, J. Macháček<sup>b</sup>, and V. Stůžka<sup>a</sup>**  
(<sup>a</sup>Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science,

*Palacký University, Olomouc, <sup>b</sup>Oncological Clinics, Faculty Hospital Olomouc, Olomouc):* **Optimization of Conditions of Selenium Determination in Blood Serum by Atomic Absorption Spectrometry**

Methods of determination of selenium in samples of dilute and mineralized blood serum by AAS with electrothermal atomization and hydride generation are described. Use of various matrix modifiers ( $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 +$

$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  and  $\text{Pd} +$  ascorbic acid) and introduction of air into a furnace during pyrolysis are discussed. With hydride generation, the influence of interfering substances (sodium and  $\text{HNO}_3$  residues after mineralizations) and optimization of the quartz atomization tube temperature are described. For all procedures, the limits of detection, determination and repeatability as well as the results of analysis of a reference material (Seronorm™ Trace Element Serum) and of reversibility testing are given.

## Technický slovník naučný

Novinka na knižním trhu 2. svazek Technického slovníku naučného D–F.

Dílo autorsky zpracované více než 200 externími autory a konzultanty zachycuje celou současnou techniku, včetně souvisejících teoretických oborů a technologií. Je určeno všem zájemcům o rychlou a kvalitní informaci ze všech oblastí techniky, důraz je kladen na novinky, ale je uváděna i stručná historie jednotlivých oborů i průkopnických technických objevů. Ilustrace mají jasný obsahový význam doplňující text hesla.

Součástí každého svazku je barevná příloha.

42 000 hesel • 3 000 ilustrací • 3 600 stran • 8 svazků formátu A5

v tvrdé laminované vazbě - budou vycházet dva svazky ročně,

vydání 8. svazku se předpokládá v roce 2005

Druhý svazek má 436 stran, obsahuje 400 černobílých ilustrací a 8 stran barevné přílohy.  
Cena 410 Kč. ISBN 80-86044-18-1

Za podpory českých vysokých škol technického směru vydává nakladatelství Encyklopedický dům, s.r.o., Svobodova 1, 128 17 Praha 2  
tel./fax: (02) 24 92 05 76,  
e-mail: encdum@mbox.vol.cz



Pro členy Společnosti přátel technického slovníku naučného nabízíme rozsáhlé výhody.

Příhláška za jejího člena a další podrobnosti o Encyklopedickém domě, s.r.o., a jeho produkci jsou na adrese: [www.encyklopedie.cz](http://www.encyklopedie.cz).



## VÝUKA CHEMIE

### UČITELSTVÍ CHEMIE V KONTEXTU AKREDITACE UČITELSKÝCH STUDIJNÍCH PROGRAMŮ NA PEDAGOGICKÝCH FAKULTÁCH\*

MARTIN BÍLEK

*Pedagogická fakulta, Univerzita Hradec Králové, V. Nejedlého 573, 500 03 Hradec Králové  
e-mail: martin.bilek@uhk.cz*

Došlo dne 6.XII.2001

Klíčová slova: učitelství chemie, akreditace učitelských oborů, chemie jako všeobecně-vzdělávací předmět, didaktika chemie.

#### 1. Úvod

Studijní programy pedagogických fakult jsou v posledních letech nejčastěji akreditovanými studijními programy. Po akreditaci v letech 1994–1995 přišla akreditace v roce 1998 a další aktuálně končí, tj. týká se let 2000–2001. Akreditovány jsou zde převážně studijní programy učitelství pro základní a střední školy, ale i řada dalších oborů příbuzných či poměrně vzdálených vysokoškolské přípravě učitelů. V uvedeném přehledu poukážeme na souvislosti akreditace studijních programů učitelství chemie, tak jak je bylo možné zaznamenat ze zápisů Akreditační komise Vlády České republiky<sup>1–5</sup> a z osobních zkušeností autora příspěvku s akreditací těchto oborů na Pedagogické fakultě Univerzity Hradec Králové. Tento příspěvek se snaží vytipovat úskalí, která akreditaci učitelství chemie provázejí, ale nemá za cíl výsledky akreditace hodnotit. Pokud se v některých částech tohoto sdělení určité prvky hodnocení či interpretace výsledků akreditace objevují, tak nepředstavují názory katedry chemie Pedagogické fakulty Univerzity Hradec Králové, ale jsou čistě osobními názory autora příspěvku.

#### 2. Co se na pedagogických fakultách se vztahem k chemii akreditovalo?

Pro účely tohoto sdělení můžeme pominout jediný studijní program s explicitním vztahem k chemii v názvu, a to „Chemie a technická chemie“ obor „Technicko-manažerské studium pro chemické a jim příbuzné obory“ na Pedagogické fakultě Univerzity J. E. Purkyně v Ústí nad Labem, neboť jiný takový nebyl na pedagogických fakultách akreditaci postoupen. Se vztahem k chemii tedy byly akreditovány obory studijních programů Učitelství pro základní školy a Učitelství pro střední školy:

- Učitelství chemie pro ZŠ
- Učitelství chemie pro SŠ

Domníváme se, že to je nutné zdůraznit, neboť akreditovaným studijním programům jsou přidělovány finanční prostředky podle náročnosti (zde jde dle přidělených koeficientů o pedagogické studijní programy – tedy koeficient 1,2; chemické studijní programy mají z největší části koeficient, kterým je násobena normativní částka na jednoho studenta, 2,8). Dle Zákona o vysokých školách a Statutu akreditační komise jsou posuzovány právě studijní programy. Zákon dále v paragrafu 83 odstavci (7) uvádí: „Akreditační komise pro odbornou přípravu svých jednání může zřizovat pracovní skupiny, jejichž složení musí odpovídat typu studijního programu, jeho formě a cíli studia“<sup>6</sup>.

V nomenklatuře studijních programů učitelství chemie na jednotlivých pedagogických fakultách je možné sledovat shodu v názvech oboru učitelství chemie pro ZŠ, ale jinak je tomu u oboru učitelství chemie pro SŠ.

1. Možnosti získání kvalifikace učitele chemie jako všeobecně vzdělávacího předmětu na základních školách na jednotlivých následujících fakultách

Studijní program: Učitelství pro ZŠ

Obor studijního programu: Učitelství pro 2. stupeň ZŠ – chemie

- katedra chemie Zemědělské fakulty Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích pro Pedagogickou fakultu
- katedra chemie Pedagogické fakulty Univerzity Hradec Králové
- katedra chemie Pedagogické fakulty Univerzity J. E. Purkyně v Ústí nad Labem
- katedra chemie Pedagogické fakulty Západočeské univerzity v Plzni
- katedra chemie Pedagogické fakulty Technické univerzity Liberec
- katedra chemie Pedagogické fakulty Masarykovy univerzity v Brně (Učitelství chemie pro ZŠ)
- katedra chemie a didaktiky chemie Pedagogické fakulty Univerzity Karlovy v Praze

2. Možnosti získání kvalifikace učitele chemie jako všeobecně vzdělávacího předmětu na středních školách na jednotlivých následujících fakultách

Studijní program: Učitelství pro SŠ

Obor studijního programu: Učitelství chemie

- katedra chemie Zemědělské fakulty Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích pro Pedagogickou fakultu

Studijní program: Učitelství pro SŠ

Obor studijního programu: Chemie

- katedra chemie Pedagogické fakulty Univerzity J. E. Purkyně v Ústí nad Labem

Studijní program: Učitelství pro SŠ

Obor studijního programu: Učitelství pro SŠ – chemie

- katedra chemie Pedagogické fakulty Univerzity Hradec Králové

\* Příspěvek byl přednesen v rámci plenárního jednání XI. Mezinárodní konference o výuce chemie „Profil učitele chemie“, konané dne 11.9.2001 na Univerzitě Hradec Králové (viz <http://www.uhk.cz/chemie/seminar/konf2001.html>).



Studijní program: Učitelství pro SŠ

Obor studijního programu: Chemie

- katedra chemie a didaktiky chemie Pedagogické fakulty Univerzity Karlovy v Praze

Studijní program: Učitelství pro SŠ

Obor studijního programu: Učitelství chemie pro SŠ

- katedra chemie Pedagogické fakulty Západočeské univerzity v Plzni

### 3. Diskuse ke vzdělávání učitelů pro střední školy na pedagogických fakultách

Akreditaci učitelství chemie na pedagogických fakultách provázela poměrně široká diskuse. Jejím předmětem byla převážně příprava učitelů chemie pro střední školy. Zde se domníváme, že v uvedených diskusích poněkud absentovala diskuse o rozdílu pojetí všeobecného vzdělávání a odborného (specializačního) vzdělávání. Akreditované učitelské studijní programy na pedagogických fakultách jak pro ZŠ, tak pro SŠ (tedy převážně pro gymnázia jakožto všeobecně vzdělávací školy) jsou zaměřeny na všeobecné vzdělávání, a tomu odpovídají (měly by odpovídat) jejich obsah a cíle. Učitelství odborných předmětů (specializačních) je v současné době v České republice zabezpečováno absolutoriem v magisterském (inženýrském) studiu příslušného oboru a doplňujícím pedagogickým studiem buď na pedagogických fakultách nebo na mateřských fakultách absolventů (např. katedra společenských věd na VŠCHT v Praze, Masarykův ústav vyšších studií jako součást ČVUT v Praze aj.).

V zápisu AS 02/01 je následující záznam vztahující se k uvedené problematice<sup>2</sup> (tučný text zdůrazněn autorem):

- zajištění kvalitní přípravy učitelů pro střední školy je na řadě pedagogických fakult značně problematické,
- v každém oboru, pro který mají být učitelé připravováni, **je potřeba stanovit určité minimální standardy**, bez jejichž splnění nelze akreditaci doporučit,
- jednotlivé žádosti je potřeba posuzovat s přihlédnutím k reálným podmínkám jednotlivých pedagogických fakult, **neměla by být přijímána „plošná“ omezení akreditace**,
- studijní programy určené k přípravě učitelů pro střední školy v jednotlivých oborech jsou pedagogickými fakultami chápány jako do jisté míry prestižní, a pokud to umožní podmínky na fakultách, měly by být zachovány,
- každá pedagogická fakulta by se měla orientovat především na ty obory, pro které má odpovídající materiální a personální zajištění, a měla by soustředit své úsilí na jejich další rozvoj; pedagogické fakulty nemohou obsáhnout celé spektrum oborů pro SŠ,
- problematická zůstává dostupnost, příp. úroveň habilitačních a jmenovacích řízení pro akademické pracovníky pedagogických fakult,
- některé pedagogické fakulty dodávaly požadovaná doplnění k žádostem jen velmi obtížně a v nedostatečné kvalitě; navíc mnohé prakticky nereagovaly na doporučení Akreditační komise z let 1995 a 1998,
- MŠMT by mělo mít vlastní koncepci přípravy učitelů.

Diskuse o rozdílu mezi všeobecného a odborného vzdělávání zde chybí. Právě na středních školách je ale markantní malá motivace studentů pro další studium přírodovědných oborů a chemie zvláště. Kolektiv autorů z Přírodovědecké fakulty

Univerzity Karlovy<sup>7</sup> uvádí, že studenti středních škol považují řadu přírodovědných poznatků za příliš teoretické, že chybí vztah k praktickému životu a budoucímu povolání. Chemii si jako maturitní předmět volí pouze 6 % z nich, matematiku a přírodní vědy jdou studovat pouze 5,4 % středoškoláků. Zamyšlení se nad cíli chemie jako všeobecně-vzdělávacího předmětu na středních školách je tak určitě na místě. Ze zkušeností např. v Německu je zřejmé, že všeobecně-vzdělávací pojetí předmětu má svoje opodstatnění minimálně v prvních dvou až třech ročnících střední školy (pro 15–16, případně 17 leté studenty) a ve vyšších ročnících je vhodné zařazovat tzv. „Leistungskurse“ – prohlubující, specializační předměty, např. z oblasti chemie analytickou chemii, biochemii, chemii životního prostředí či interdisciplinární „kyselý dešť“ jako volitelný předmět odpovídající možnostem a personálnímu obsazení dané školy<sup>8</sup>.

### 4. Výsledky akreditace matematiky a přírodovědných oborů učitelství na pedagogických fakultách<sup>1–4</sup>

O rozdílném stavu výsledků akreditace zvláště chemie a částečně i biologie vůči ostatním přírodovědným předmětům, matematice a všeobecně vzdělávacím technickým a informačním předmětům vypovídají tabulky I a II.

Soupis připomínek Akreditační komise k oborům učitelství chemie pro ZŠ a SŠ na příslušných fakultách:

Ústí nad Labem (ZŠ, SŠ) – katedra chemie Pedagogické fakulty UJEP

ZŠ – posílit počet a odborný růst učitelů v oboru, zlepšit věkovou strukturu

SŠ – posílit počet a odborný růst učitelů v oboru, zlepšit věkovou strukturu

České Budějovice (ZŠ, SŠ) – katedra chemie Zemědělské fakulty pro Pedagogickou fakultu JČU

ZŠ – personálně zajistit jednotlivé oblasti chemie, odborný růst mladých pracovníků, zlepšit přístup k informačním zdrojům

SŠ – doplnit personální zajištění nosných předmětů, doplnit a vést pedagogickou dokumentaci, zajistit přístup k chemickým informačním zdrojům

Hradec Králové (ZŠ, SŠ) – katedra chemie Pedagogické fakulty UHK

ZŠ – posílit odborný růst učitelů v oboru

SŠ – předložit znovu do května 2002, posílit odborný růst učitelů v oboru, zkvalitnit vybavení laboratoří

Praha (ZŠ, SŠ) – katedra chemie a didaktiky chemie Pedagogické fakulty UK

ZŠ – bez připomínek

SŠ – omezení akreditace – zákaz přijímat uchazeče ke studiu od r. 2002/03, doplnit personální zajištění katedry mladšími pracovníky s VŠ vzděláním v chemii a pracovníky s vědeckou hodností v oboru chemie

Plzeň (ZŠ, SŠ) – katedra chemie Pedagogické fakulty ZČU

ZŠ – posílit odborný růst učitelů v oboru, zlepšit věkový průměr, zlepšit vybavení a přístup k informačním zdrojům, za 2 roky zprávu o personálním zajištění

SŠ – omezení akreditace – zákaz přijímat ke studiu uchazeče od r. 2002/03, doplnit personální zajištění katedry chemie mladšími pracovníky s VŠ vzděláním v chemii

Tabulka I

Výsledky akreditace Učitelství vybraných předmětů pro ZŠ (P – nějaká výhrada; čím tmavší je barva políčka, tím větší jsou výhrady k akreditaci, případně doporučení odnětí akreditace)

Fakulta/obor učit. pro ZŠ	Doba udělené akreditace					
	matematika	fyzika	chemie	biologie/ přírodopis/ pěstitelství	zeměpis/ geografie	technická a inf. výchova (VT), základy techniky
PdF UK	6	–	6	6	–	6
PdF UJEP	6	6	6 P	6	6 P	6
PdF ZčU	6	6	6 P	6	6	6
PdF JčU	6	6	6 P	6	6 P	6 P
PdF MU	6	6	6 (P)	6	6	6
PdF UHK	6	6	6 P	6	–	6
PdF TUL	6	6	6 P	–	6	–
PdF UP	6	–	–	–	–	6
PdF OU	6	–	–	–	–	6

Tabulka II

Výsledky akreditace Učitelství vybraných předmětů pro SŠ (P – nějaká výhrada, Zn – požadavek nového předložení akreditace v roce 2002, Ne – doporučení k odebrání akreditace, tj. nepřijímat studenty od roku 2002/2003; čím tmavší je barva políčka, tím větší jsou výhrady k akreditaci, případně doporučení odnětí akreditace)

Fakulta/obor učit. pro SŠ	Doba udělené akreditace					
	matematika	fyzika	chemie	biologie	geografie/ zeměpis	inf., VT, základy techniky
PdF JčU	6	6	3 P	6 P	–	6
PdF UJEP	6	6	3 P	3 P	–	–
PdF UHK	6	6	Zn	6 P	–	6
PdF UK	6	–	Ne	6	–	6
PdF ZčU	Zn	Zn	Ne	Ne	6	6
PdF TUL	6	6	–	–	–	6
PdF MU	6	6	–	–	–	–
PdF UP	–	–	–	–	–	–
PdF OU	–	–	–	–	–	–

a pracovníky s vědeckou hodností v oboru chemie, vybavit pracoviště technikou a vytvořit podmínky pro vědeckou práci Brno (ZŠ) – katedra chemie Pedagogické fakulty MU

ZŠ – posílit počet a odborný růst učitelů v oboru, zlepšit věkový průměr, zlepšit laboratorní zázemí<sup>1</sup>; zápis<sup>2</sup> bez připomínek

Liberec (ZŠ) – katedra chemie Pedagogické fakulty TUL

ZŠ – doplnit výuku matematiky pro kombinaci s jiným neexaktním oborem, zlepšit logickou návaznost předmětů, posílit odborný růst učitelů v oboru

Z výsledků akreditace vybraných oborů studijních programů Učitelství pro ZŠ a Učitelství pro SŠ v tabulkách I a II je zřejmý nejhorší stav právě v chemii. Je situace chemie opravdu tak katastrofální ve srovnání s matematikou a ostatními přírodovědnými předměty, nebo byla použita akreditační komisí jiná kritéria? Z uvedených formulací připomínek k jednotlivým pracovištím na fakultách, které tyto obory studijních programů zabezpečují, plyne, že se akreditace zaměřila pouze na chemickou část učitelského vzdělávání. V žádném případě

se nevyskytuje poznámka k chemicko-didaktické části, dle našeho názoru základní profesionalizační části učitelské přípravy. Přesto je možné zaznamenat obrovské rozdíly v zajištění této části: didaktika chemie je bez povšimnutí Akreditační komisí zabezpečována tak rozdílně, že existují pracoviště s jediným nebo dvěma pracovníky bez vědecké hodnosti až po pracoviště s několika habilitovanými docenty či profesorem. Vytýkána je absence vědecké činnosti v chemických oborech, absence kmenových pracovníků, zabývajících se určitou oblastí chemie, ale na druhé straně není nijak posuzována vědecká a publikační činnost v didaktice chemie. Součinnost výuky ve studijním programu s vědeckou činností to však přímo vyžaduje. Takto orientovanému výzkumu, tj. výzkumu v oborové didaktice, který se přímo dotýká profilu studijního programu učitelství, odpovídá (i když asi ne zcela přesně) i jednotný normativ finančních prostředků pro všechny učitelské obory. Pro ilustraci uvádím v tabulce III grantovou činnost kateder matematiky, fyziky, biologie a technických předmětů ve srovnání s katedrou chemie Pedagogické fakulty Univerzity Hra-

Tabulka III

Grantová činnost kateder matematiky, fyziky, biologie, technických předmětů a chemie PdF UHK (dle Výroční zprávy UHK za rok 2000 (cit.<sup>9)</sup>)

Katedra	Ma	Fy	Bi	TP	Che
Počet pracovníků zapojených ve výzkumných záměrech UHK	2	0	0	4	3
Počet projektů GA ČR	1	1	0	0	2
Počet projektů resortního výzkumu ministerstev	0	0	2	0	1
Počet zahraničních projektů (OSF, Tempus)	0	0	1	0	1
Počet projektů FRVŠ	0	0	1	0	4
Počet projektů MŠMT	1	1	2	1	4
Počet projektů IG PdF	3	2	1	2	5

dec Králové v roce 2000 v kontextu výsledků akreditace v tabulkách I a II.

#### Z doporučení Akreditační komise při předcházející akreditaci pedagogických fakult

Z informací uvedených v předcházející kapitole, doplněných o tabulku III, by mohlo vyplývat, že jde v případě chemie o chybné nasměrování aktivit. Tedy chybné podstatné zaměření vědecko-výzkumné a s ní související pedagogické činnosti na didaktiku chemie, v menší míře činnost v bioorganické chemii a chemii životního prostředí, když některé základní chemické obory zajišťují odborníci z jiných pracovišť. Zaměření je však v souladu, alespoň dle našeho názoru, se závěry předcházející akreditace pedagogických fakult. Ze zápisu je možné vybrat a citovat následující<sup>10</sup>: „Některé obory vyučované na pedagogických fakultách (ale též na dalších fakultách připravujících učitele) vyžadují, aby existovaly také hraniční obory označované zpravidla jako oborové didaktiky, tedy např. didaktika matematiky, fyziky, biologie, atd. Vyžadují, aby učitelé byli vzdělávání, byli výzkumně činní a měli možnost získat vědecko-pedagogický titul docent či profesor v didaktice příslušného oboru.“

Zkušenosti naznačují, že existuje nejméně dvojí nebezpečí:

- didaktika oboru je chápána některými jedinci jako jistá úniková cesta, jako možnost obejít tvrdé požadavky výchozího oboru a snadněji získat příslušný gradus,
- didaktika oboru je chápána některými jedinci jako přežitek totalitního období, který nemá právo na samostatnou existenci, neboť je třeba získávat grady v rámci „tvrdé vědy“. Realita u nás i ve vyspělých zemích ukazuje, že didaktiky oboru – pokud jsou ovšem provozovány na úrovni – jsou opodstatněné a je třeba se jim se vší vážností věnovat. Znamená to ovšem, že o příslušné doktorské studium nebude žádat každá fakulta. Znamená to také, že se posílí spolupráce mezi oborem a jeho didaktikou, mezi obecnou didaktikou a oborovými didaktikami, mezi různými oborovými didaktikami navzájem.

V závislosti na aktuálním stavu a perspektivách rozvoje může existovat trojí řešení:

- podpora samostatné mezioborové disciplíny – pro každou didaktiku nosného oboru postačí ustavit jednu kvalitní oborovou radu složenou z nejlepších odborníků v ČR (žádoucí by byla i účast zahraničních odborníků); doktorské studium situovat na tu fakultu vysoké školy (nemusí jít nutně o fakultu pedagogickou), která je zárukou nejvyššího doktorského studia a dostatečně náročného řízení habilitačního a jmenovacího; příkladem je didaktika matematiky,
- rozvoj mezioborové disciplíny v rámci příslušného vědního oboru, např. didaktika fyziky v rámci oboru fyzika,
- rozvoj mezioborové disciplíny zatím v rámci oboru pedagogika s náležitými personálními i materiálními garancemi (posoudí Akreditační komise).

Jakým způsobem byla tato součást učitelského vzdělávání v našem oboru akreditována nyní? Ze strany chemie? Ze strany pedagogiky? Byla všude úplně bez připomínek, nebo zůstala mimo posouzení? To jsou otázky, které by zasluhovaly odpovědi.

## 5. Návrhy a doporučení

Dotkli jsme se problému míry akreditačního posouzení stěžejní části studijních programů učitelství všeobecně-vzdělávacích předmětů, didaktiky chemie. Pokusme se formulovat to, co by měl obor bez ohledu na současný postoj Akreditační komise udělat:

- vypracovat standard pro obor učitelství chemie jako všeobecně vzdělávacího předmětu na ZŠ,
- vypracovat standard pro obor učitelství chemie jako všeobecně vzdělávacího předmětu na SŠ,
- spolupracovat na vypracování standardu učitelství odborných chemických předmětů na SŠ – doplňující pedagogické studium,
- připravit k akreditaci doktorský studijní program,
- prosadit do sekcí Akreditační komise odborníky schopné posoudit profesionalizační stránku učitelského studia – oborovou didaktiku nebo iniciovat založení sekce Akreditační komise zabývající se učitelstvím všeobecně vzdělávacích předmětů – spolupráce oborových didaktik (např. v Německu MNU – společnost pro matematické a přírodovědné vzdělávání a nově GDF – společnost pro německou oborovou didaktiku),
- hledat pomoc v zahraničí,
- hledat možnosti k publikaci vědecko-výzkumných prací (časopisy, sborníky, bulletiny, Web),
- obnovit studentskou vědeckou činnost (nejen v rámci diplomových prací), studentské konference atd.

## 6. Několik otázek plynoucích z prostudování výsledků akreditace učitelských programů

Závěrem uvedu ještě několik postřehů ze zápisů Akreditační komise, které vnášejí určité nejasnosti do posuzování učitelství studijních programů a nekorespondují se známými postoji odborné veřejnosti:

- dle zápisu Akreditační komise ze dne 12.–13.6.2001 (cit.<sup>4</sup>) byl pro pražskou pedagogickou fakultu schválen studijní program Učitelství pro SŠ – obor studijního programu: Učitelství všeobecně-vzdělávacích předmětů pro ZŠ a SŠ

- se specializacemi; učitelství chemie však bylo již před tím akreditováno (pro ZŠ) a neakreditováno pro SŠ jiným způsobem,
- učitelství všeobecně vzdělávacích předmětů se v ČR studuje jako dvouoborové – objevily se již případy akreditace jednooborových učitelství všeobecně vzdělávacích předmětů (např. Učitelství anglického jazyka pro ZŠ na FHV Univerzity Pardubice),
  - učitelství pro ZŠ vyžaduje magisterský stupeň vzdělání – objevily se již případy bakalářských jednooborových učitelství cizích jazyků (např. prodloužená akreditace bakalářského studijního programu Specializace v pedagogice obor Učitelství cizích jazyků pro ZŠ – Anglický jazyk na Pedagogické fakultě MU),
  - problematika „Boloňské deklarace“ – bakalářské a navazující magisterské studium – je akreditováno bakalářské studium Specializace v pedagogice obor Učitelství odborných předmětů, kdy se jedná o navazující či souběžný studijní program podmíněný absolvováním magisterského studijního programu,
  - rigorózní zkouška (tzv. „malý doktorát“) je zákonnou součástí magisterského stupně vzdělávání, a přesto je vyžadován k její akreditaci doktorský studijní program či jeho první absolventi apod.

Uvedme ještě některé tzv. koeficienty náročnosti pro některé studijní programy pro rok 2001, jimiž je násoben normativ na jednoho studenta. Považujeme to za vhodné vzhledem ke kontextu uvedených informací.

Chemie	2,8
Analytická chemie	2,8
Anorganická chemie	2,8
Organická chemie	2,8
Biochemie	2,8
Biochemie a biotechnologie	2,8
Makromolekulární chemie	2,8
Jaderná chemie	2,8
Spotřební chemie	2,8
Speciální biol. – chem. obory	2,8
Aplikace přírodních věd	2,8 (ČVUT)
Aplikace přírodních věd	2,25
Ekologie, Ekologie a ŽP	1,65
Učitelství pro základní školy	1,2
Učitelství pro střední školy	1,2
Specializace v pedagogice	1,2
Filologie	1,2
Filozofie	1,0
Pedagogika	1,0
Psychologie	1,0
Sociologie	1,0
Historické vědy	1,0
Taneční umění	3,5
Výtvarná umění (UJEP, VUT, AVU, VŠUP)	3,5
Výtvarná umění (ZU, UHK)	1,65

## 7. Závěr

Co dodat na závěr? Jsme si vědomi, že jsme se dotkli složité otázky učitelského vzdělávání a jeho realizace v podmínkách českého školství. V poslední době dostává nový akcent v kontextu připravovaného vstupu České republiky do

Evropské unie. I v EU není zdaleka jednotný pohled na systém vzdělávání učitelů. Jsou země, kde jsou stabilní studijní učitelské programy pro základní i střední školy (např. Lehramtstudium v Německu<sup>11</sup>), ale i země, kde je učitelská příprava až nadstavbou vysokoškolského studia příslušného oboru (např. Postgraduate Certificate of Education ve Skotsku<sup>12</sup>). Tradice českého učitelského vzdělávání však má hluboké kořeny a jeho změny by neměly podléhat tendencím a unáhleným, výzkumem neověřeným krokům.

## LITERATURA

1. Zápis ze zasedání Akreditační komise č. 01-01, 23.–24.1.2001, Tuchlovice. <http://www.msmt.cz> (cit. 5.4.2001)
2. Zápis ze zasedání Akreditační komise č. 02-01, 13.–14.3.2001, Třešť. <http://www.msmt.cz> (cit. 5.4.2001)
3. Zápis ze zasedání Akreditační komise č. 03-01, 24.–25.4.2001, Štáhlavice. <http://www.msmt.cz> (cit. 2.9.2001)
4. Zápis ze zasedání Akreditační komise č. 04-01, 12.–13.6.2001, Velké Meziříčí. <http://www.msmt.cz> (cit. 15.7.2001)
5. Zápis ze zasedání Akreditační komise č. 05-01, 11.–12.9.2001, Kolín. <http://www.msmt.cz> (cit. 21.10.2001)
6. Zákon č. 111 Sb. o vysokých školách.
7. Bičík I., Čížková V., Čtrnáctová H., Klímová H., Matějka D.: *Nové trendy ve vzdělávání učitelů přírodovědných oborů*, str. 46. Karolinum – nakladatelství Univerzity Karlovy, Praha 1998.
8. Bílek M.: *K integraci v přírodovědném vzdělávání*. Gaudeamus, Hradec Králové 2001.
9. Univerzita Hradec Králové: *Výroční zpráva 2000*. Gaudeamus, Hradec Králové 2001.
10. Akreditační komise MŠMT: *Hodnocení pedagogických fakult (hodnotící zpráva o výsledcích akreditace pedagogických fakult ČR v roce 1998)*. <http://www.msmt.cz> (cit. 8.9.2001)
11. Pfeifer P.: *Profil učitele chemie I. – sborník plenárních přednášek XI. mezinárodní konference o výuce chemie, 11.–13.9.2001, Hradec Králové* (Bílek M., ed.), str. 44. Gaudeamus, Hradec Králové 2002.
12. Lutz B.: *Profil učitele chemie I. – sborník plenárních přednášek XI. mezinárodní konference o výuce chemie, 11.–13.9.2001, Hradec Králové* (Bílek M., ed.), str. 51. Gaudeamus, Hradec Králové 2002.
13. Pokorná B.: *Profil učitele chemie I. – sborník plenárních přednášek XI. mezinárodní konference o výuce chemie, 11.–13.9.2001, Hradec Králové* (Bílek M., ed.), str. 65. Gaudeamus, Hradec Králové 2002.

**M. Bílek** (Department of Chemistry, Pedagogical Faculty, University of Hradec Králové, Hradec Králové): **Education of Chemistry Teachers in View of Accreditation of Teachers Study Programs at Pedagogical Faculties in the Czech Republic**

Various aspects of the accreditation process of the teachers chemistry study programs are described. The sources of information are materials of the Accreditation Commission of the Czech Government presented on the Web and author's experience with the accreditation process at the Pedagogical Faculty of the University of Hradec Králové.