

Nová vlna miniaturizace nás nemine

Pokrok se nadá zastavit a věci se mění. To jsou obecně uznávané poučky, které se každodenně obráží v našem životě. Nové věci se objevují, zatímco řada dříve velice užitečných předmětů prostě zapadla v propadlišti dějin. Z těch druhých namátkou jmenujme logaritmické pravítko, psací stroj, či kopírovací papír. Ty prostě zmizely a lze je nalézt ještě tak v literatuře či ve stolec zarytých staromilců. Mezi těmi předměty, které rovněž již prakticky neexistují jsou elektronky, které jsme též někdy nazývali lampami, protože jejich podoba se žárovkami byla zcela zřejmá. Dodnes vzpomínám na zkoušku z elektroniky na VŠCHT, k níž jsem se musel pracně všechny ty diody a triody a já už nevím ještě jaké -ody a jejich elektrody a mřížky pečlivě naučit, abych uspěl. Kde je jim dneska konec? Kdo ještě ví, jak pracovaly! Radiové přijímače v domácnostech se honosily názvy jako osmilampovka a to už bylo skutečně něco! První úspěšný počítač ENIAC jich měl v roce 1946 dokonce 18 000. Pak přišel koncem čtyřicátých let minulého století tranzistor a lampám hbitě odzvonilo. Kdosi spočítal, že kdyby se dnešní mobilní telefon měl sestavit z elektronek, byl by velký asi tak jako Washingtonův monument ve Washingtonu, D.C. Bylo by asi směšné nazývat jej mobilním. Tranzistor způsobil, že se rozměry elektronických zařízení zmenšily o několik řádů a i „obyčejný“ kapesní počítač, do něhož si zaznamenáváme telefonní čísla, schůzky, a vyřizujeme cestou tramvají e-mail, jsou mnohonásobně výkonnější než jejich netranzistoroví předchůdci, kteří zabírali celé místnosti. Pomineme-li skutečnost, že nám všechny tyto moderní „hračky“ významnou měrou zpřijemňují život, pak tato mikroelektronická revoluce vedla ke vzniku průmyslového odvětví, jež má obrovský dopad na celosvětovou ekonomiku.

Miniaturizace elektroniky se projevila i v chemii. Přístroje jako infračervené či hmotové spektrometry zabíraly ještě v sedmdesátých letech značnou část místnosti a jejich výstup byl registrován na poněkud kuriózním papíře s nalepenou vrstvou křídly. V dnešním mikroelektronickém světě tyto přístroje zabírají malou část pracovního stolu a lze je vcelku snadno přemístit z místa na místo, i když to ještě někdy vyžaduje určité úsilí. Mnohdy je počítač, který tyto aparáty řídí, větší než samotný přístroj.

Přístroje, jež poskytují chemické a biochemické informace, jsou mimořádně důležitým pomocníkem, neboť prakticky celá společenská produkce na nich nějakým způsobem závisí. Chemická analýza je běžným prostředkem stanovení klinické diagnózy, procesy v chemickém průmyslu jakož i životní prostředí jsou nepřetržitě monitorovány s použitím často plně automatických přístrojů. A to není ani snad třeba zmiňovat výzkum, který se bez chemických informací získávaných prostřednictvím přístrojů prostě neobejde. Jak rostou požadavky na počet analýz a rychlost zpětného předávání infor-

mací, jsou potřeba přístroje výkonnější leč současně i menší. Zdá se však, že přístrojová technika, tak jak ji známe na počátku 21. století, už do značné míry vyčerpala možnosti dalšího současného zrychlování a zmenšování při použití tradičních přístupů.

Jak již bylo řečeno, v současné době roste počet objektů, jež mají být podrobeny zkoumání i jejich komplexnost. Dobrým, a dnes by se dalo již říci klasickým příkladem, je dešifrování lidského genetického kódu (genom). Jedná se vpravdě o velmi složitý výzkum, od něhož se očekává enormní pokrok v lékařství. Jeho první část, rozluštění lidského genomu, se po 12 letech celosvětového úsilí stalo skutečností. Ve skutečnosti, znalost genetického kódu je teprve počátek, protože teprve ovládnutí oblasti proteinů (proteom), které jsou v DNA z části zakódovány, může významně přispět k předcházení i cílenému léčení mnoha nemocí. A tady se opět dostáváme do oblasti obrovského počtu analýz, jež budou muset být provedeny, abychom vnesli světlo do světa proteinů, z nichž jsme stvořeni. Strádné odhady soudí, že v našem těle je jich na 100 000 a v současné době známe funkci sotva jedné čtvrtiny z nich. K čemu jsou dobré ty ostatní, zůstává zatím záhadou. Vyřešit ji s dnešními přístroji a postupy se zdá být velice obtížné a kvalitativní změna je více než potřebná.

Zdá se, že oním žádoucím „skokem“ bude používání mikrofluidních systémů, tedy miniaturizace ne nepodobná oné, jež elektronika prošla před zhruba padesáti lety. Tato paralela je velice slibná, neboť může významným způsobem zrychlit celý nový vývoj. Co jsou to vlastně ta mikrofluidní zařízení. Dnes v podstatě nic jiného než známé laboratorní postupy prováděné ve velmi miniaturizovaném měřítku. Nicméně pro budoucnost se této technice také někdy říká laboratoř na čipu či mikroskopický totální analytický systém (μ TAS). Tak na příklad lze dnes separovat látky v kanálku s průřezem několika set čtverečních mikrometrů a délce několika centimetrů, jež je vyleptán do skleněné destičky podobné podložnímu sklíčku používanému v optickém mikroskopu, přičemž všechny operace, jež vyžadují průtok kapaliny jako je dávkování vzorku či vlastní separace, jsou řízeny prostými změnami napětí na elektrodách vložených do jednotlivých vstupů k mikrokanálům. Až potud se zdá celá záležitost být snadnou. Jak je tomu však ve skutečnosti? Obsluhujeme-li tradiční přístroj, používáme většinou ruce či poměrně jednoduché mechanické prostředky. To ovšem není možné v zařízeních, kde jednotlivé prvky mají rozměr pouhých několika mikrometrů a pojednávané objemy o velikosti nano- a pikolitrů (10^{-12} – 10^{-15} l). Takže například dávkování vzorku injekční stříkačkou je nereálné. Přitom pro sestavení kompletního μ TAS bude zapotřebí zabudovat celou řadu prvků, jež známe z dnešního makrosvětla, jako jsou ventily, kolony, absorbéry, směšovače,

reaktory a mnohé další, které však nelze prostě miniaturizovat. Řešení k některým z nich jsou již alespoň z části známa, o jiných se začíná uvažovat. Problémem, řeklo by se triviálním, je na příklad míšení látek z různých proudů. Tok v kanálcích je totiž laminární a k převodu hmoty dochází pouze difuzí, která je ovšem velice pomalá. I když je tato oblast velice mladá, bylo již dosaženo pozoruhodných a velice slibných výsledků. Elektrochromatografická separace dosažená za několik milisekund, či paralelní elektroforetická separace 96 vzorků na kruhovém čipu s průměrem menším než 10 cm jsou jistě impresivní příklady. První komerční zařízení, které dokáže ve velmi krátké době separovat nukleové kyseliny ve dvanácti paralelních kanálech vyleptaných ve skle o rozměru 2,5 × 2,5 cm, bylo v roce 1999 uvedeno na trh firmou Agilent Technologies. Podstatnou výhodou těchto čipů je nejenom malý rozměr, ale i potenciálně nízká cena a tudíž jejich jednorázové použití.

Kam tato technika může vést v blízké či vzdálenější budoucnosti? Mikrolaboratoře budou významnými pomocníky při výzkumu vesmíru a počítá se s nimi na příklad v misi k Titanu

a jiným tělesům naší sluneční soustavy. Změní se také tradiční logika chemické laboratoře. Zatímco dnes se nosí vzorky do laboratoře, nebude v budoucnu problémem přenést laboratoř na čipu ke vzorkům. Levné senzory specificky detegující přítomnost nežádoucích látek v ovzduší či ve vodě bude možné nasadit masově. Podobně již existují představy o zařízení ve velikosti náramkových hodinek, které bude nepřetržitě monitorovat stav organismu a předávat tyto informace do centrálního počítače. Ten po jejich vyhodnocení a případném nalezení abnormalit navrhne okamžitě řešení v podobě odpočinku, léčení, či jiné akce nasměrované k navrácení zpět do požadovaného optimálního stavu. Zní to jako sci-fi? První úspěšné experimenty, i když se značně zjednodušenými zařízeními, byly již popsány. Takže podobně jako se první primitivní tranzistorový rozhlasový přijímač změnil v dnešní superkomputery, lze očekávat, že i druhá vlna miniaturizace, jež se tentokrát bytostně dotýká chemie, změni v blízké budoucnosti od základu přístupy k chemické analýze.

František Švec

SEPARÁCIE CHIRÁLNYCH LÁTOK KAPILÁRNOU ELEKTROFORÉZOU

JURAJ ŠEVČÍK^{a,b}, EVA TESAŘOVÁ^c
a ZDENĚK STRÁNSKÝ^{a,b}

^aKatedra analytické chemie, e-mail: sevcik@risc.upol.cz a ^bCentrum analytické chemie molekulární struktur, Univerzita Palackého, Třída Svobody 8, 771 46 Olomouc, ^cKatedra fyzikální a makromolekulární chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Albertov 2030, 128 00 Praha 2

Došlo dňa 1.III.2000

Klíčové slová: kapilárna elektroforéza, chirálna separácia, opticky aktívne látky

Obsah

1. Úvod
2. Separácie chirálnych látok metódami kapilárnej elektroforézy
 - 2.1. Mechanizmus ligandovej výmeny
 - 2.2. Tvorba inklúzných komplexov
 - 2.3. Afinitné interakcie
 - 2.4. Micelárne systémy a mikroemulzie
 - 2.5. Imobilizované chirálne systémy
3. Ovplyvnenie separácie chirálnych látok – modely versus experiment
 - 3.1. Vplyv experimentálnych parametrov na separáciu chirálnych látok
 - 3.1.1. Vplyv typu a koncentrácie chirálneho selektora
 - 3.1.2. Vplyv zloženia, koncentrácie a pH základného elektrolytu
 - 3.1.3. Vplyv prídavku organických aditív
 - 3.1.4. Vplyv pracovných parametrov
 - 3.2. Modely a postupy chirálnych separácií pomocou cyklodextrínov

1. Úvod

Kapilárna elektroforéza je modernou analytickou separačnou technikou, ktorá dnes prežíva prudký rozvoj. Vďaka dobre prepracovanej teórii, množstvu pracovných módov, vysokej účinnosti, rýchlosti analýzy, jednoduchému vývoju metód a dostupnosti automatizovaných prístrojov na trhu nachádza svoje uplatnenie v rôznych oblastiach aplikácií. Príkladmi môžu byť jej použitia pri analýzach biomakromolekúl – proteínov, cukrov, oligonukleotidov, restričných fragmentov DNA (projekt Hugo zameraný na dešifrovanie ľudského genomu), obsahu buniek či častí vírusov, aminokyselín, organických kyselín, liečiv, vitamínov, potravinárskych farieb, anorganických iónov, pesticídov či detergentov.

Jednou z oblastí analytickej chémie, v ktorej kapilárna

elektroforéza dnes v plnom rozsahu prezentuje svoje možnosti, je problematika separácií chirálnych látok. Separácie opticky aktívnych zlúčenín majú okrem lákavého analytického problému (enantioméry vykazujú v achirálnom prostredí totožné fyzikálno-chemické vlastnosti) i značný praktický význam, pretože jednotlivé enantioméry chirálnych zlúčenín vo väčšine prípadov vykazujú značne odlišné farmakologické, toxikologické či pesticídne vlastnosti pri svojich interakciách so živými – tj. chirálnymi – systémami. Doposiaľ však pri tvorbe analytických postupov separácií konkrétnych chirálnych zlúčenín prevláda empirický prístup spojený ako s výberom vhodného chirálneho činidla, tak i s množstvom nutných krokov pri optimalizácii experimentálnych parametrov.

Tento prehľadný článok je venovaný problematike separácií chirálnych látok metódami kapilárnej elektroforézy. Vzhľadom k tomu, že od roku 1988 neustále narastá množstvo publikovaných prác, prehľadných článkov^{1–30} ako i špeciálnych čísel odborných časopisov (napr. *Electrophoresis* 18 (1997), *J. Chromatogr.* 792 (1997).) vzťahujúcich sa k tomuto problému, je uvedený prehľad iba reprezentatívnym prierezom rôznych postupov a vybraných aplikácií.

2. Separácie chirálnych látok metódami kapilárnej elektroforézy

Separácie optických izomérov sú založené na interakciách enantiomérov s chirálnym selektorom (pred, alebo počas separačného procesu) za tvorby diastereoizomérnych komplexov líšiacich sa vo svojich fyzikálno-chemických vlastnostiach. Rozdiely vo fyzikálno-chemických vlastnostiach sa využívajú k ovplyvneniu rozdielov vo výsledných efektívnych pohyblivostiach enantiomérmeho páru. Teória diskriminácie chirálnych látok je založená na predstave minimálne trojbojovej interakcie enantiomérov s chirálnym selektorom³¹, pričom minimálne jedna z týchto interakcií musí byť stereochemicky definovaná³².

Transformácia enantiomerického páru na stabilné diastereoizoméry derivatizáciou s chirálnym selektorom pred vlastnou separáciou v achirálnom prostredí je princípom tzv. nepriamych metód analýzy chirálnych látok. Výhodou tohoto postupu je značná flexibilita vo voľbe elektroforetických separačných podmienok a možnosť zníženia detekčného limitu analyzovaných látok. Nevýhody spočívajú v nutnosti validácie derivatizačného kroku (výťažok reakcie, tvorba vedľajších produktov, možnosť racemizácie, vplyv vzorkovej matrice), v nárokoch na čistotu chirálnych selektorov určených k derivatizácii, v potrebe analytu vlastniť vhodné funkčné skupiny schopné reakcie s chirálnym selektorom a v časovej náročnosti metódy. Pomocou tohoto postupu boli separované napr. enantioméry aminokyselín derivatizáciou s Marfeyovým činidlom³³ (*N*^α-(2,4-dinitrofenyl-5-fluor)-L-alaninamid), s GITC (cit.³⁴) (2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-β-D-glukopyranozylyzotiokyanátom), methamfetamínu, amfetamínu a ich prekurzorov s GITC (cit.³⁵) či deriváty tryptofanu s anhydridom kyseliny (+)-*O*,*O*'-diacetyl-L-vínnej³⁶.

Priame metódy analýzy enantiomérov sú založené na ich priamej separácii v chirálnom prostredí. Chirálny selektor je pridávaný do základného elektrolytu^{37–88}, inkorporovaný do gélu^{48,89,90}, naviazaný na nosič^{91,92} či imobilizovaný na stenách kapiláry^{93–96}. Zaujímavé možnosti určite prinesie používanie chirálnych „monolitických kolón“⁹⁷. Jednotlivé enantioméry sú diskriminované na základe tvorby rôzne stabilných diastereomérnych komplexov s chirálnym selektorom. Tento postup je dnes najčastejšie používaný, pretože eliminuje všetky nevýhody spomínané u nepriamych metód (nie je vyžadovaná derivatizácia, čistota chirálneho selektoru nie je dominantná, atd.). Určitá nevýhoda tohoto postupu spočíva vo výbere vhodného chirálneho selektoru.

Princípy používaných priamych metód podľa typu použitého chirálneho selektoru a separačného mechanizmu spolu s niektorými aplikáciami sú bližšie diskutované v nasledujúcich podkapitolách. Je si treba uvedomiť, že uvedené rozdelenie selektorov podľa separačného mechanizmu nie je najpresnejšie, pretože v interakčnom mechanizme chirálny selektor – analyt sa často kombinuje viacerými typmi interakcií.

2.1. Mechanizmus ligandovej výmeny

Enancioseparácia výmenou ligandov je založená na tvorbe koordinačných komplexov pozostávajúcich z centrálného iónu tranzitného kovu (napr. Cu^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Co^{3+} , ...) a pri najmenšom dvoch chirálnych bifunkčných ligandov (chirálného koselektoru a separovaného enantioméru). Tieto koordinačné komplexy sú charakterizované svojimi konštantami stability, ktoré sú závislé na geometrii a orientácii ligandov vznikajúcich ternárnych komplexov, na vzájomných interakciách krátko dosahu koselektoru s jednotlivými enantiomérmi a sú významne ovplyvňované separačným prostredím (zložením základného elektrolytu).

Týmto postupom bolo v kapilárnej elektroforéze vykonaných relatívne málo experimentov, pretože dvojica enantiomérov, ktorá má byť separovaná, musí obsahovať minimálne dve funkčné skupiny schopné poskytovať elektrónový pár centrálnemu kovu (napr. amino- a karboxylovú či hydroxy- a karboxylovú skupinu). Navyše stabilita vznikajúcich koordinačných komplexov klesá s narastajúcou početnosťou atómov chelátového kruhu.

Princíp tvorby diastereomérnych kovových komplexov bol využitý, podobne ako rovnaký princíp v kvapalinovej chromatografii, najmä pri analýzach enantiomérov aminokyselín (s Co^{3+} -etyléndiaminom v prostredí kyseliny (L)-(+)-vinnej⁹⁸, Cu^{2+} -(L)-hydroxyprolínom⁹⁹), danzylderivátov aminokyselín (pomocou Cu^{2+} -L(D)-histidínu^{100,101}, Cu^{2+} -aspartámu¹⁰², Cu^{2+} -N,N-didecyl-L-alanínu¹⁰³), dipeptidov obsahujúcich histidín (komplexy Zn^{2+})¹⁰⁴, α -hydroxykyselín (s Cu^{2+} -(L)-hydroxyprolínom¹⁰⁵).

2.2. Tvorba inklúzných komplexov

Podstata separácií chirálnych analytov pomocou tvorby labilných inklúzných komplexov spočíva v rozdielnej afinitive jednotlivých enantiomérov s rigídnym vnútorným prostredím kavít chirálneho selektora a jeho okolia. Reprezentantmi tejto skupiny chirálnych selektorov sú najmä cyklodextríny a deriváty crown etérov. Avšak v literatúre sa objavujú i ďalšie typy selektorov, ktoré aspoň čiastočne využívajú hosť-hosti-

telské interakcie (napr. makrocyclické antibiotiká^{39–41}, kalixareny⁴²).

Zo širokého spektra crown etérov bola k chirálnym separáciám doposiaľ použitá iba [18]-crown-6-tetrakarboxylová kyselina, ktorá vďaka rozmerom svojho kruhu vytvára s protonizovanými primárnymi amínmi selektívne inklúzne komplexy (interakcie medzi vodíkovými atómami aminoskupiny s kyslíkovými atómami polyetérového kruhu). Teória chirálnej diskriminácie je založená na predstave, že štyri karboxylové skupiny na crown etérovom kruhu vytvárajú chirálnu bariéru pre inkludujúce sa enantioméromé molekuly, pričom sa súčasne medzi nimi uplatňujú i interakcie krátko dosahu (najmä elektrostatické interakcie karboxylových skupín a vodíkové mostíky). Je zaujímavé, že so vzrastajúcou koncentráciou [18]-crown-6-tetrakarboxyklovej kyseliny v základnom elektrolyte dochádza k lepšiemu rozlíšeniu bez významného poklesu pohyblivosti analytov⁴³. Enancioseparáciu môžu negatívne ovplyvňovať ióny alkalických kovov prítomné v separačnom elektrolyte, pretože taktiež tvoria s crown etérmi komplexy.

[18]-Crown-6-tetrakarboxyklová kyselina bola úspešne použitá pri separáciách niektorých aminokyselín^{44,45}, dipeptidov⁴⁴, aminoalkoholov⁴⁵ a ďalších zlúčenín majúcich primárnu aminoskupinu⁴⁶. Synergický účinok α -cyklodextrínu a chirálneho crown etéru bol pozorovaný pri separácii racemického tryptofanu⁴.

Cyklodextríny v natívnom stave, alebo modifikované rôznymi či už ionizovateľnými (sulfbutyl-, succinyl-, fosfo-, karboxymetyl-, acetyl-, metylamino-, aminoethylamino-, ...), alebo neionizovateľnými (hydroxypropyl-, metyl-, ...) skupinami patria medzi najpopulárnejšie a najčastejšie používané chirálne selektory. Cyklodextríny sú neutrálne prírodné cyklické oligosacharidy majúce tvar zrezaného kužela. Ich relatívne hydrofóbna kavita s vysokou elektrónovou hustotou umožňuje vytvárať inklúzne komplexy s nepolárnymi analytmi (resp. ich skupinami) o vhodných rozmeroch. Objem kavít varíuje s počtom glukózových jednotiek⁴⁷. Enancioselektivita cyklodextrínov je daná asymetrickými uhlíkmi glukózy a hydroxylovými skupinami primárnych a sekundárnych alkoholov na vstupných prstencoch⁴⁸. Afinita cyklodextrínovej kavít k analytu vzrastá s jeho narastajúcou hydrofóbcitou. Chirálny analyt môže byť inkludovaný do kavít úplne, alebo čiastočne, pričom vznikajúci komplex je stabilizovaný interakciami so sekundárnymi hydroxylovými skupinami glukózových jednotiek, ktoré sú zodpovedné za enanciodiskrimináciu. Stabilita vznikajúcich inklúzných komplexov spolu s efektívnymi pohyblivosťami jednotlivých enantiomérov, a tým i výsledné chirálne rozlíšenie, sú ovplyvňované množstvom rôzne vyvážených experimentálnych parametrov, ktorých vplyv je bližšie diskutovaný v nasledujúcich podkapitolách. Derivatizáciou hydroxylových skupín dochádza k zmene v molekulárnej štruktúre natívnych cyklodextrínov, čo sa následne odráža napr. v zmene veľkosti a hydrofóbcity kavít, novej ponuke stereoselektívnych centier umožňujúcich ďalšie interakcie, alebo v ich solvatacii či stabilite. U β -cyklodextrínov sa navyše často zvýši ich rozpustnosť vo vodnom prostredí. Priaznivým dôsledkom chemickej modifikácie najmä u β -cyklodextrínov je významné zvýšenie selektivity separácie enantiomérov^{49,50}. Nabité deriváty cyklodextrínov ďalej rozširujú možnosti použitia týchto chirálnych selektorov pre separáciu analytov, ktoré sami nenesú vlastný náboj. Nový rozmer do

diskriminačného procesu separácie enantiomérov vnáša použitie β -cyklodextrínových oligomérov^{51–54}, u ktorých sa uplatňuje vplyv ich konformácie⁶³.

Cyklodextríny použili ako chirálne aditíva v jednotlivých elektromigračných technikách medzi prvými Smolková-Keulemansová¹⁰⁶ (izotachoforéza), Karger⁴⁸ (gelová elektroforéza), Terabe⁵⁵, Fanali⁴⁹ (kapilárna zónová elektroforéza), Dobashi¹⁰⁷, Terabe⁵⁶ Nishi⁵⁷ (micelárna elektrokinetická chromatografia). Odvtedy bolo rôznymi autormi analyzované nespočetné množstvo enantiomérov fyziologicky významných látok a liečiv^{58–63}, aminokyselín^{64,65}, aromatických hydroxykyselín⁶⁶, pesticídov⁶⁷ atd. Množstvo ďalších aplikácií je obsiahnutých v prehľadných článkoch a publikáciách^{7,8,11,14,15}.

2.3. Afinity interakcie

Názov tejto podkapitoly nie je najpresnejší, pretože afinitné interakcie zahŕňujú celý rad interakcií, počínajúc elektrostatickými, cez vodíkové väzby, hydrofóbne interakcie a končiac napríklad inklúziou. Termín „afinitné“ bol prevzatý z názvu „afinitná kapilárna elektroforéza“⁶⁸, ktorý sa používa pre systémy obsahujúce napr. proteíny, alebo iné biomakromolekuly ako aditíva.

Následne prezentované chirálne selektory vykazujú vo svojich molekulách enantiodiskriminačné centrá, ktoré sú definované konformáciou týchto selektorov a sú vysokoselektívne iba pre ten ktorý analyt (enantiomér). Tieto selektory sú väčšinou biologického pôvodu a majú veľké množstvo chirálnych atómov v molekule. Ich použitie je odvodené najmä od ich transportných vlastností v živých organizmoch. Väčšinou ide o polyméry pozostávajúce z chirálnych monosacharidov a aminokyselín.

Proteíny tvoria jednu zo skupín chirálnych biopolymérnych selektorov úspešne použitých k separácii množstva rôznych typov enantiomérov. Substrátová špecifita proteínov determinujúca separačnú selektivitu je však značne závislá na použitých experimentálnych podmienkach (najmä na pH a zložení základného elektrolytu, resp. danej iónovej sile). Vzhľadom k pomalej kinetike a nízkej kapacite proteín – ligandových interakcií sú obdržané píky široké a asymetrické. Určitou nevýhodou použitia proteínov vo vyšších koncentraciách je i ich absorbancia v UV oblasti spektra. Navyše, ich interakcie so stenou kapiláry výrazne znižujú opakovateľnosť a reprodukovateľnosť meraní a často i negatívne ovplyvňujú výsledné chirálne rozlíšenie. Z proteínových selektorov boli použité najmä sérové albumíny či už navzájom zosieťované (kapilárna gelová afinitná elektroforéza)^{69–71}, alebo ako chirálne aditívum pridávané do základných elektrolytov^{72,73}, celobiohydroláza⁷⁴, avidín⁷⁵ či kyslé glykoproteíny (orosomucoid, ovomucoid, ...) ^{75,76}.

Lineárne sacharidy tvoria druhú skupinu biopolymérnych selektorov, ktorá bola použitá pre enantiodiskrimináciu. Zo širokej skupiny vo vode rozpustných oligosacharidov boli ako chirálne selektory úspešne použité zmesi maltodextrínov (Maldex, Glucidex, Maltrin, mylóza)⁷⁷, dextran⁷⁸ a heparín⁹. Niektoré protonizovateľné enantioméromerne liečivá (clenbuterol, mianserin, verapamil, ...) boli separované pomocou dextrán sulfopropyleteru⁷⁹. Zaujímavé enantiodiskriminačné vlastnosti vykazujú tiež chondroitínsulfát A (cit.⁸⁰), chondroitínsulfát C (cit.⁸¹) či curdlan (lineárny β -1,3-glukan)⁸² tvoriaci po zahriatí stabilný gel.

Jednu z najnovších a veľmi sľubných skupín chirálnych selektorov tvoria makrocyclické antibiotiká. Použité makrocyclické antibiotiká vlastnia množstvo stereogénnych centier a funkčných skupín, ktoré sú využiteľné pri enantioselekciiach (aromatické skupiny, amidové väzby, skupiny poskytujúce tvorbu vodíkových väzieb, hydrofóbne regióny, kavity, ...). Pomocou makrocyclických glykopeptidových antibiotík vancomycínu^{83–86} a teikoplanínu⁸⁷ bolo doposiaľ rozlíšených cez sto rôznych racemátov zahrňujúcich nesteroidné protizápalové látky, antineoplastické zlúčeniny či derivatizované aminokyseliny. K chirálnemu rozlíšeniu aminoalkoholov boli tiež použité antibiotiká rifamicínového typu⁴⁰, Ristocetin A (cit.⁸⁸) a Avoparcin¹⁰⁸.

Z ďalších prírodných látok boli pre separáciu opticky aktívnych zlúčenín použité pozitívne nabitý ergotový alkaloid (+)-(5*R*,8*S*,10*R*)-1-allyl-tergurid^{109,110}, cinchonový alkaloid quinín¹¹¹ či polymérny chitosan (deacetylovaný chitín)¹¹².

2.4. Micelárne systémy a mikroemulzie

Pri separáciách opticky aktívnych látok pomocou micelárnych systémov sú chirálne centrá zodpovedné za enantiodiskrimináciu väčšinou inkorporované v micelách. Tenzidy tvoriace micely či mikroemulzie plnia obyčajne jednu z dvoch funkcií – buď vytvárajú vlastné chirálne micelárne prostredie či už zo samotných chirálnych tenzidov, alebo z nechirálnych tenzidov zmiešaných s chirálnymi selektormi, ktoré sú v základnom elektrolyte nerozpustné, alebo málo účinné (zmesné micely), alebo na druhej strane solubilizujú a transportujú neutrálne či nenabité analyty v základnom elektrolyte.

Medzi najčastejšie používané chirálne tenzidy patria deriváty žľčových kyselín (kyselina cholová, deoxycholová, taurocholová a taurodeoxycholová). Mechanizmus ich chirálnej diskriminácie však nie je doposiaľ dostatočne objasnený. Pomocou týchto chirálnych tenzidov boli analyzované niektoré danzylované aminokyseliny^{13,113} a liečivá^{114–117}. Ďalšími používanými chirálnymi tenzidmi sú dodekanoylové deriváty niektorých aminokyselín (L-valínu, L-alanínu, L-glutamátu), ktoré boli použité pri separáciách enantiomérov derivatizovaných aminokyselín^{107,118–122} či cukrov¹²³. Zvýšenie selektivity tohoto typu chirálnych tenzidov sa docieli tvorbou zmesných miciel s dodecylsulfátom sodným (SDS) (kombináciou elektrostatických a hydrofóbnych interakcií s chirálnymi centrami a micelárnym jadrom zmesného systému). Komicelárne systémy SDS s digitonínom^{119,124} a SDS s niektorými saponínmi¹²⁵ (glycínrhizovou kyselinou či β -escinom) boli použité pri analýze derivátov aminokyselín. Tenzidy (najmä SDS) sú významnými aditívami pridávanými do základného elektrolytu pri enantioseparáciách pomocou γ -cyklodextrínov, kedy okrem modifikácie vnútra kavity plnia i solubilizačnú a transportnú funkciu. Týmto zmesným systémom boli separované napr. enantioméry derivatizovaných aminokyselín (SDS)^{126,127}, binaftylov¹²⁸, niektorých pyrethroidov (SDS)¹²⁹, bupivakaínu (hexadecyltrimetylamoniumbromid¹³⁰). Súčasne makrocyclické antibiotiká boli úspešne použité v micelárnych systémoch s SDS²². Teikoplanín tvorí sám agregáty, ktorých prítomnosť v elektrolyte enantioseparáciu skôr zhoršuje⁸⁷. Boli použité i zmesné systémy cyklodextrínov s chirálnymi tenzidmi (taurodeoxycholát) pre separácie danzylovaných aminokyselín^{131–133}.

Mikroemulzie možno zjednodušene označiť ako „micelár-

ne systémy s veľmi vysokým agregačným číslom“. Sú preto vhodné predovšetkým pre separácie hydrofóbných zlúčenín. Avšak širšieho uplatnenia mikroemulzné systémy pre separácie opticky aktívnych látok nedosiahli. Príkladom použitia mikroemulzií je separácia efedrínu pomocou lipofilného (2*R*,3*R*)-di-*n*-butylvínanu s butanolom a SDS¹³⁴.

2.5. Imobilizované chirálne systémy

Alternatívou k priamemu pridávaniu chirálneho aditíva do základného elektrolytu je použitie imobilizovaných chirálnych fáz. Toto experimentálne usporiadanie je síce sľubné, ale doposiaľ obtiažne realizovateľné. Použitie tradičných chirálnych HPLC stacionárnych fáz (β -cyklodextrínových⁹¹, glykoproteínových⁹², ...) , chirálnych aditív navzájom spolymerezovaných (allylkarbamoylovaný β -cyklodextrín s akrylamidom⁸⁹, β -cyklodextrín s dextranom¹³⁵, hovädzí sérový albumín s glutaraldehydom⁹⁰, ...) či zosieťovaných pomocou polyakrylamidových gélov (β -cyklodextrín⁴⁸), alebo priamo vyviazaných na stenách kapiláry (modifikované β -cyklodextríny⁹³⁻⁹⁶) nenachádza pri praktických elektrochromatografických enancioseparáciách uplatnenie vzhľadom k problémom spojeným najmä s ich prípravou (napr. gelové matrice sú obtiažne reprodukovateľné, majú krátku dobu životnosti, vytvárajú sa bubliny, ...) a malou operačnou flexibilitou. Možné riešenie týchto problémov by mohlo priniesť už spomínané zavedenie monolitov, alebo modifikovaných lineárnych polymérov.

3. Oplyvnenie separácie chirálnych látok – modely versus experiment

Separácia dvoch analytov v kapilárnej elektroforéze je založená na rozdieloch v ich efektívnych elektroforetických pohyblivostiach. Mierou úspešnosti tejto separácie je rozlíšenie R_S , ktoré je funkciou účinnosti N a selektivity S (relatívneho rozdielu v pohyblivostiach¹³⁶) a môže byť definované rovnicou (1)¹³⁷

$$R_S = \frac{1}{4} \sqrt{N} \frac{\Delta\mu}{\bar{\mu} - \mu_{eo}} \quad (1)$$

kde $\Delta\mu$ je rozdiel v efektívnych elektroforetických pohyblivostiach dvoch analytov, $\bar{\mu}$ stredná elektroforetická pohyblivosť a μ_{eo} elektroosmotická pohyblivosť.

Separáčna selektivita je ovplyvňovaná navzájom množstvom experimentálnych parametrov, pričom vplyv niektorých z nich sa dá takmer predpovedať (pH, koncentrácia chirálneho selektora, teplota) a predpoveď u iných je obtiažna (typ cyklodextrínu, typ a koncentrácia základného elektrolytu či organického aditíva). Preto je potrebné pri vývoji metódy separácie daných opticky aktívnych látok, či pri testovaní nových chirálnych selektorov študovať vplyv všetkých experimentálnych parametrov a nájsť medzi nimi najvhodnejší kompromis.

Systematické štúdium vplyvu experimentálnych parametrov na separáčnu selektivitu je založené buď na menení hodnôt jedného parametru pri konštantnom zachovaní hodnôt ostatných parametrov (nevariačné postupy), alebo na súčasnom menení viacerých parametrov podľa určitého algoritmu (multivariačné postupy¹³⁸ napr. metóda úplných či frakčných

faktoriálov (Plackettova-Burmanova)¹³⁹, simplexová metóda, mapovania prekryvu rozlíšenia či metóda hlavných zložiek). Výhodou multivariačných postupov je podstatné zníženie počtu experimentov a lepšia štatistická interpretácia. Avšak postupy meniace iba jeden parameter prinášajú lepšiu interpretáciu vplyvu daného parametru na enanciodiskriminačný proces.

3.1. Vplyv experimentálnych parametrov na separáciu chirálnych látok

3.1.1. Vplyv typu a koncentrácie použitého chirálneho selektora

Výber vhodného typu chirálneho selektora vychádza z chemickej štruktúry analytu a výrazne predurčuje úspešnosť výsledného chirálneho rozlíšenia^{140,141}. Aby mohlo dôjsť k maximálnemu rozvinutiu všetkých interakcií medzi analytom a chirálnym selektorom musia si obidvaja navzájom maximálne priestorovo vyhovovať⁶⁴. Toto všeobecné pravidlo možno dokumentovať na príklade β -cyklodextrínov. Ak porovnáme natívne a derivatizované β -cyklodextríny, výhoda použitia modifikovaných β -cyklodextrínov spočíva okrem ich lepšej rozpustnosti tiež i vo variabilite objemu a geometrie kavity či ponuke stereoselektívnych interakcií daných rôznorodosťou substituentov. Zavedenie ionizovateľnej skupiny do štruktúry cyklodextrínu zvyšuje separáčnu selektivitu (predĺžením účinnej separačnej dráhy, ponukou elektrostatických interakcií).

Koncentrácia cyklodextrínov je dominantným parametrom enancioselektivity. S narastajúcou koncentráciou cyklodextrínov narastá viskozita základného elektrolytu, redukuje sa elektroosmotický tok a predlžuje doba analýzy. Vzhľadom k tomu, že nie sú známe asociačné rovnovážne konštanty inklúzných komplexov jednotlivých enanciomérov, ani ich elektroforetické pohyblivosti, je nutné túto optimálnu koncentráciu zistiť experimentálne. Určité semiempirické prístupy sú demonštrované v kapitole 3.2.

3.1.2. Vplyv zloženia, koncentrácie a pH základného elektrolytu

Zloženie základného elektrolytu, jeho koncentrácia, pH a iónová sila významne ovplyvňujú účinnosť (vplyv elektrodisperzie, adsorbcie na steny kapiláry, modifikácie elektroosmotického toku¹⁴²) i selektivitu (modifikácia polarita prostredia, hustoty náboja analytov, interakcií analytov či chirálnych selektorov s proti-iónmi¹⁴³) výsledného chirálneho rozlíšenia. pH ovplyvňuje ionizáciu analytov i chirálnych selektorov, a tým dáva možnosť (alebo naopak bráni) vniku nových vzájemných interakcií. Vzrast iónovej sily zvyšuje chirálne rozlíšenie napr. v cyklodextrínom modifikovaných systémoch, pretože vzrastom hydrofilicity pufovacieho systému sa zintenzívňujú hydrofóbné interakcie medzi analytom a cyklodextrínovou kavitou⁶⁵. K príprave základných elektrolytov je vhodné používať látky s nízkou vodivosťou¹⁴¹ (potlačenie generovania Joulovho tepla).

3.1.3. Vplyv prídavku organických aditív

Prídavok organických rozpúšťadiel do základného elektrolytu v rôznej miere modifikuje (zmenou rozpustnosti, solvata-

cie, ionizácie) vzájomnú interakciu analytov a chirálnych selektorov či už v pozitívnom¹⁴⁴ alebo negatívnom zmysle (solvatačná stabilizácia iónov sa zmenšuje, klesá stupeň disociácie, rozpúšťadlá potlačujú tvorbu micel). V prípade teikoplanínu má rozrušenie jeho agregátov (zvýšenie kritickej micelárnej koncentrácie) prídavkom niekoľkých percent acetonitrilu za následok zlepšenie enantioselektivity i separačnej účinnosti¹⁴⁵. Pri použití napr. proteínových chirálnych selektorov môže prídavok organického aditíva spôsobiť zmenu konformácie a tým negatívne ovplyvniť enantioseparáciu. K ovplyvneniu interakčného mechanizmu prispieva i zmena polarít základného elektrolytu (pokles hydrofóbných interakcií). Vplyv prídavku organických rozpúšťadiel sa odráža i v zmene viskozity základného elektrolytu a zeta potenciálu (pokles elektroosmotického toku). Vzhľadom ku komplexnosti zmien, výsledný efekt vplyvu organických rozpúšťadiel na chirálne rozlíšenie je podstatný a musí byť experimentálne optimalizovaný.

Podobne i tenzidy pridané do základného elektrolytu významne modifikujú selektivitu systému. Svojimi nepolárnymi časťami molekúl interagujú napr. s kavitou cyklodextrínov a súťažia s analytmi o jej väzbové miesta^{130,146}. Pravdepodobne i polárne časti tenzidov interagujú s hydrofilným povrchom cyklodextrínov čo sa môže odrážať v modifikácii stereoselektívnych interakcií na vstupných otvoroch kavity. Tenzidy sa sorbujú na steny kapiláry a ovplyvňujú veľkosť a smer (katiónové tenzidy) elektroosmotického toku¹⁴⁷.

3.1.4. Vplyv pracovných parametrov – voľba kapiláry, aplikovaného napätia a teploty

Výber pokrytej či nepokrytej kapiláry je daný látkami, ktoré majú byť analyzované a použitými chirálnymi selektorami (využitie, alebo potlačenie elektroosmotického toku, potlačenie sorbie). Všeobecne s poklesom vnútorného priemeru kapiláry a vzrastom dĺžky kapiláry sa zlepšuje chirálne rozlíšenie⁵⁹ – vďaka lepšej disipácii generovaného Joulovho tepla a predĺženiu separačnej dráhy. Nevýhodou predĺženia kapiláry je nárast času, ktorý je potrebný k analýze. Nižšie priemery kapilár vedú k poklesu citlivosti detekcie.

Intenzita elektrického poľa je pracovný parameter, ktorý musí byť opatrne optimalizovaný¹⁴⁸. Je potrebné nájsť kompromis medzi elektrickou silou udeľujúcou rýchlosť danému analytu a chemickou asociačnou silou (afinitou) vznikajúceho asociátu (v prípade cyklodextrínu inklúzneho komplexu), ktorá umožňuje chirálnu diskrimináciu. S narastajúcou hodnotou aplikovaného napätia narastá účinnosť systému (N) a rýchlosť analýzy, avšak klesá hodnota rovnovážnej asociačnej konštanty inklúzneho komplexu (vplyvom generovaného Joulovho tepla a posunom chemickej rovnováhy).

Zmeny v teplote separačného systému vedú k rozdielnym efektom na výsledné chirálne rozlíšenie. S narastajúcou teplotou klesá viskozita základného elektrolytu (zvyšuje sa efektívna pohyblivosť a difúzia separandov), narastá rýchlosť elektroosmotického toku (klesá účinná separačná dráha). Pri použití cyklodextrínov klesá asociačná rovnovážna konštanta vznikajúcich inklúzných komplexov (exotermný charakter vlastnej komplexácie). Všeobecne s nárastom teploty dochádza k poklesu selektivity systému^{60,65}, a tým i výsledného chirálneho rozlíšenia. Niektoré chirálne selektory (napr. makrocyclické antibiotiká) sú navyše pri vyšších teplotách nestabilné.

Z kinetického hľadiska môže byť výhodné také experimentálne usporiadanie, kde chirálny selektor a jednotlivé enantioméry migrujú oproti sebe. Pokiaľ chirálny selektor absorbuje pri vlnovej dĺžke, ktorá je potrebná k detekcii analytov (napr. vankomycín^{20,22}), je možné si vypomôcť napr. iba čiastočným naplnením kapiláry chirálnym selektorom¹⁴⁹.

3.2. Modely a postupy chirálnych separácií pomocou cyklodextrínov

Vzhľadom k tomu, že cyklodextríny v 80. rokoch takmer úplne ovládli pole chirálnych separácií, je väčšina modelov a postupov chirálnych separácií demonštrovaná prostredníctvom použitia cyklodextrínov ako chirálnych selektorov. Následujúce príklady majú iba ilustrovať prístupy k optimalizácii (resp. hľadaniu najlepších podmienok) enantioseparácie a nekladú si nárok na to, aby podali vyčerpávajúci prehľad. Skutočnosťou ale stále ostáva, že zatiaľ žiadny z nich nedokáže predpovedať podmienky, za ktorých dôjde k najlepšej separácii daného páru enantiomérov. Tieto podmienky musia byť doposiaľ stanovované empiricky.

Wrenov model optimálnej koncentrácie chirálneho selektora¹⁵⁰⁻¹⁵⁴ vychádza z predstavy, že meraná efektívna elektroforetická pohyblivosť je vektorovým súčtom pohyblivostí voľného a v komplexe viazaného enantioméru. Obidve elektroforetické pohyblivosti sú determinované afinitou k chirálnemu selektoru a jeho koncentráciou. Pre rozdiel v efektívnych pohyblivostiach jednotlivých enantiomérov $\Delta\mu$ bola odvodená rovnica (2) (cit¹⁵) z ktorej môže byť vypočítaná optimálna koncentrácia chirálneho selektora poskytujúca najlepšie rozlíšenie.

$$\Delta\mu = \frac{[C]\{K_1(\mu_1 - \mu_0) - K_2(\mu_2 - \mu_0) + K_1K_2[C](\mu_1 - \mu_2)\}}{(1 + K_1[C])(1 + K_2[C])} \quad (2)$$

V rovnici (2) reprezentuje μ_0 elektroforetické pohyblivosti voľných (nevyviazaných) enantiomérov, μ_1 a μ_2 limitné elektroforetické pohyblivosti oboch enantiomérov – cyklodextrínových komplexov (ktoré môžu, ale nemusia byť rozdielne), K_1 a K_2 ich asociačné rovnovážne konštanty, C koncentráciu cyklodextrínu. Pomocou tohoto modelu sa dajú veľmi dobre popísať i inverzie v pohyblivostiach jednotlivých enantiomérov pozorované s narastajúcou zmenou koncentrácie chirálneho selektora.

Modely navrhnuté Vighom a spolupracovníkmi¹⁵⁶⁻¹⁶⁰ korelujú vplyvy koncentrácie cyklodextrínu a pH (zmena disociácie slabých elektrolytov a konštant stability inklúzných komplexov) spolu so zložením základného elektrolytu¹⁶¹ (vplyv elektromigračnej disperzie) na efektívnu pohyblivosť voľných i inkludovaných enantiomérov slabých elektrolytov, separačnú selektivitu a symetriu pík. Snahou tohoto modelu je nájsť sledom zmien jednotlivých experimentálnych parametrov (pH, koncentrácie cyklodextrínu a koncentrácie ko-iónu) tzv. modelové parametre (iónovú pohyblivosť enantioméru a komplexu enantiomér–cyklodextrín, spolu s hodnotami ich disociačných konštant), ktorých dosadením do odvodených rovníc môžu byť stanovené tzv. povrchové profily pohyblivosti, separačného faktoru či rozlíšenia. Modelové parametre sa experimentálne stanovujú tromi setmi meraní – meraním zmien

pohyblivostí analytu na zmene pH (bez prídavku cyklodextrínu v základnom elektrolyte) a na zmene koncentrácií cyklodextrínu pri vysokej a nízkej hodnote pH základného elektrolytu.

Technika cyklodextrínového setu analýzy chirálnych látok^{162,163} navrhnutá Guttmanom popisuje rýchly vývoj metódy enancioseparácie slabých elektrolytov. Vychádza z predstavy, že úspech chirálnej separácie (enancioselektivity) závisí najmä na hodnote pH použitého základného elektrolytu, koncentracii a type vhodného chirálneho selektoru. Je založená na vykonaní sady experimentov s vybraným setom štyroch cyklodextrínov (β - a γ -cyklodextrín, hydroxypropyl- β -cyklodextrín a dimetyl- β -cyklodextrín) pri dvoch hodnotách pH základného elektrolytu (2,5 a 8,0).

Uvedené príklady ukazujú, že vytvorenie si predstavy o konkrétnom enancioselektívnom separačnom systéme pre rozseparovanie požadovaných enanciomérov nie je jednoduché. Tiež ďalšie prístupy, ako sú napr. modelovanie interakcií medzi chirálnym selektorom a analytom^{164–166} či stanovovanie konštanty stability¹⁶⁷ takéhoto asociátu, sú omedzené iba na konkrétny systém s daným základným elektrolytom (v prípade modelovania sa dokonca na vplyv pufru úplne zabúda) a nedajú sa jednoducho zovšeobecniť. Preto zatiaľ najlepšou cestou k úspešnému rozdeleniu daného páru enanciomérov ostáva skúsenosť experimentátora spolu s informáciami o enancioseparáciách podobných látok získaných z literatúry.

Tato práca bola podporená grantami MŠMT ČR VŠ 96021, MSM 153100013 a GA UK 9/1998/B CH/PřF.

LITERATÚRA

- Snopek J., Jelínek I., Smolková-Keulemansová E.: *J. Chromatogr.* 452, 571 (1988).
- Snopek J., Smolková-Keulemansová E., v knihe: *New Trends in Cyclodextrins and Derivatives* (Duchene D., ed.), str. 483. Edition Sante, Paris 1991.
- Fanali S., v knihe: *Capillary Electrophoresis Technology* (Guzman N. A., ed.), str. 731. Marcel Dekker, New York 1993.
- Kuhn R., Hoffstetter-Kuhn S.: *Chromatographia* 34, 505 (1992).
- Snopek J., Jelínek I., Smolková-Keulemansová E.: *J. Chromatogr.* 603, 235 (1992).
- Valko I. E., Billiet H. A. H., Corstjens H. A. L., Frank J.: *LC-GC Int.* 6, 420 (1993).
- Otsuka K., Terabe S.: *Trends Anal. Chem.* 12, 125 (1993).
- Fanali S., Cristalli M., Vespalec R., Boček P., v knihe: *Advances in Electrophoresis* (Chrambach A., Dunn M. J., Radola B. J., ed.), sv. 7, str. 1. VCH, Weinheim 1994.
- Ward T. J.: *Anal. Chem.* 66, 633A (1994).
- Novotný M., Soini H., Stefansson M.: *Anal. Chem.* 66, 646A (1994).
- Rogan M. M., Altria K. D., Goodall D. M.: *Chirality* 6, 25 (1994).
- Vespalec R., Boček P.: *Electrophoresis* 15, 755 (1994).
- Terabe S., Otsuka K., Nishi N.: *J. Chromatogr.* 666, 295 (1994).
- Schmitt T.: *Separation of Enantiomers in Capillary Electrophoresis*. Thermo Separation Products, Fremont 1995.
- Nishi H., Terabe S.: *J. Chromatogr.* 694, 245 (1995).
- Rogan M. M., Altria K. D.: *Introduction to the Theory and Application of Chiral Capillary Electrophoresis*. Beckman Instruments, Fullerton 1995.
- Nishi H.: *J. Chromatogr. A* 735, 57 (1996).
- Fanali S.: *J. Chromatogr. A* 735, 77 (1996).
- Bressolle F., Audran M., Pham. T. N.: *J. Chromatogr. B* 687, 303 (1996).
- Fanali S.: *An Introduction to Chiral Analysis by Capillary Electrophoresis*. Bio-Rad, Richmond 1996.
- Vespalec R., Boček P.: *Electrophoresis* 18, 843 (1997).
- Ward T. J., Ostwald T. M.: *J. Chromatogr. A* 792, 309 (1997).
- Hage D. S.: *Electrophoresis* 18, 2311 (1997).
- Sutton R. M. C., Sutton K. L., Stalcup A. M.: *Electrophoresis* 18, 2297 (1997).
- Chankvetadze B.: *Capillary Electrophoresis in Chiral Analysis*. Willey, New York 1997.
- Verleysen K., Sandra P.: *Electrophoresis* 19, 2798 (1998).
- Tesařová E., Armstrong D. W., v knihe *Advanced Chromatographic and Electromigration Methods in BioSciences* (Deyl D., Mikšík I., Tagliaro F., Tesařová E., ed.), str. 197. Elsevier, Amsterdam 1998.
- Desiderio C., Fanali S.: *J. Chromatogr. A* 807, 37 (1998).
- Vespalec R., Boček P.: *Electrophoresis* 20, 2579 (1999).
- Fanali S., Aturki Z., Desiderio C.: *Enantiomer* 4, 229 (1999).
- Dalgies C. E.: *J. Chem. Soc.* 47, 3940 (1952).
- Pirkle W. H., Pochapsky T. C.: *Chem. Rev.* 89, 347 (1989).
- Tran A. D., Blanc T., Leopold E.: *J. Chromatogr.* 516, 241 (1990).
- Nishi H., Fukuyama T., Matsuo M.: *J. Microcol. Sep.* 2, 234 (1990).
- Lurie I. S.: *J. Chromatogr.* 605, 269 (1992).
- Schutzner W., Fanali S., Rizzi A., Kenndler E.: *J. Chromatogr.* 639, 375 (1993).
- Snopek J., Jelínek I., Smolková-Keulemansová E.: *J. Chromatogr.* 308, 472 (1989).
- Fanali S., Boček P.: *Electrophoresis* 11, 757 (1990).
- Armstrong D. W., Rundlett K. L., Chen R. J.: *Chirality* 6, 496 (1994).
- Armstrong D. W., Rundlett K., Reid L.: *Anal. Chem.* 66, 1690 (1994).
- Gaspar M. P., Berthod A., Nair U. B., Armstrong D. W.: *Anal. Chem.* 68, 2501 (1996).
- Pena M. S., Zhang Y. L., Wainer I. M.: *Anal. Chem.* 69, 3239 (1997).
- Kuhn R., Stoecklin F., Erni F.: *Chromatographia* 33, 32 (1992).
- Kuhn R., Erni F., Bereuter T., Hauser J.: *Anal. Chem.* 64, 2815 (1992).
- Hohne E., Krauss G. J., Gubitzi G.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 15, 698 (1992).
- Kuhn R., Wagner J., Walbroehl Y., Bereuter T.: *Electrophoresis* 15, 828 (1994).
- Szejtli J.: *Cyclodextrins and Their Inclusion Complexes*. Academiai Kiado, Budapest 1982.
- Guttman A., Paulus A., Cohen N., Grinberg N., Karger B. L.: *J. Chromatogr.* 448, 41 (1988).

49. Fanali S.: *J. Chromatogr.* 474, 441 (1989).
50. Nardi A., Eliseev E., Boček P., Fanali S.: *J. Chromatogr.* 638, 247 (1993).
51. Aturki Z., Fanali S.: *J. Chromatogr.* 680, 137 (1994).
52. Nishi H., Nakamura K., Nakai H., Sato T.: *J. Chromatogr.* 678, 333 (1994).
53. Ingelse B. A., Everaerts F. M., Desiderio C., Fanali S.: *J. Chromatogr.* 709, 89 (1995).
54. Ingelse B. A., Everaerts F. M., Ševčík J., Stránský Z., Fanali S.: *J. High. Resol. Chromatogr.* 18, 348 (1995).
55. Misyashita Y., Terabe S., v kniže: *Application Data, DS 767*, str. 1. Beckman Instruments, Palo Alto 1990.
56. Terabe S., Ozaki H., Otsuka K., Ando T.: *J. Chromatogr.* 332, 211 (1985).
57. Nishi H., Fukuyama T., Terabe S.: *J. Chromatogr.* 553, 503 (1991).
58. Nielsen M. W. F.: *Anal. Chem.* 65, 885 (1993).
59. Peterson T. E.: *J. Chromatogr.* 630, 353 (1993).
60. Schutzner W., Fanali S.: *Electrophoresis* 13, 687 (1992).
61. Schmitt T., Engelhardt J.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 16, 35 (1993).
62. Ševčík J., Lemr K., Smysl B., Jirovský D., Hradil P.: *J. Liq. Chrom. Rel. Technol.* 21, 2473 (1998).
63. Ševčík J., Stránský Z., Ingelse B., Lemr K.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 14, 1089 (1996).
64. Sepaniak M. J., Cole R. O., Clark B. K.: *J. Liq. Chromatogr.* 15, 1023 (1992).
65. Kuhn R., Stocklin F., Erni F.: *Chromatographia* 33, 32 (1992).
66. Nardi A., Eliseev A., Boček P., Fanali S.: *J. Chromatogr.* 638, 247 (1993).
67. Nielsen M. W. F.: *J. Chromatogr.* 637, 81 (1993).
68. Neubert R. H. H., Schwartz M. A., Mrestani Y., Platzer M., Raith K.: *Pharmaceut. Res.* 16, 1663 (1999).
69. Birnbaum S., Nilsson S.: *Anal. Chem.* 64, 2872 (1992).
70. Sun P., Barker G. E., Hartwick R. A., Grinberg N., Kaliszan R.: *J. Chromatogr.* 652, 247 (1993).
71. Sun P., Wu N., Barker G., Hartwick R. A.: *J. Chromatogr.* 648, 475 (1993).
72. Barker G. E., Russo P., Hartwick R. A.: *Anal. Chem.* 64, 3024 (1992).
73. Vespalec R., Šustáček V., Boček P.: *J. Chromatogr.* 638, 255 (1993).
74. Valtcheva L., Mohammad J., Petterson G., Hjerten S.: *J. Chromatogr.* 638, 263 (1993).
75. Tanaka Y., Matsubara N., Terabe S.: *Electrophoresis* 15, 848 (1994).
76. Busch S., Kraak J. C., Poppe H.: *J. Chromatogr.* 635, 119 (1993).
77. D'Hulst A., Verbeke N.: *J. Chromatogr.* 608, 275 (1992).
78. Sun P., Wu N., Barker G. E., Hartwick R. A.: *J. Chromatogr.* 648, 475 (1993).
79. Jung M., Bornsen K. O., Francotte E.: *Electrophoresis* 17, 130 (1996).
80. Nishi H.: *J. Chromatogr. A* 735, 345 (1996).
81. Nishi H., Nakamura K., Nakai H., Sato T.: *Anal. Chem.* 67, 2334 (1995).
82. Long Z., Ohta T., Nakamura H.: *Anal. Sci.* 11, 663 (1995).
83. Armstrong D. W., Rundlett K. L., Chen R. J.: *Chirality* 6, 496 (1994).
84. Vespalec R., Corstjen H., Billiet H. A. H., Frank J., Luyben K. A. Ch. M.: *Anal. Chem.* 67, 3223 (1995).
85. Vespalec R., Billiet H. A. H., Frank J., Luyben K. C. A. M.: *J. High. Resolut. Chrom.* 19, 137 (1996).
86. Chankvetadze B., Endresz G., Blaschke G.: *Electrophoresis* 15, 804 (1994).
87. Rundlett K. L., Gasper M. P., Zhou E. Y., Armstrong D. W.: *Chirality* 8, 88 (1996).
88. Armstrong D. W., Gasper M. P., Rundlett K. L.: *J. Chromatogr.* 689, 285 (1995).
89. Cruzado I., Vigh G.: *J. Chromatogr.* 608, 421 (1992).
90. Birnbaum S., Nilsson S.: *Anal. Chem.* 64, 2872 (1992).
91. Li S., Lloyd D. K.: *J. Chromatogr.* 666, 321 (1994).
92. Li S., Lloyd D. K.: *Anal. Chem.* 65, 3684 (1993).
93. Mayer S., Schurig V.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 15, 129 (1992).
94. Armstrong D. W., Tang Y., Ward T., Nichols M.: *Anal. Chem.* 65, 1114 (1993).
95. Mayer S., Schurig V.: *J. Liq. Chromatogr.* 16, 915 (1993).
96. Meyer S., Schurig V.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 15, 129 (1992).
97. Peters E. C., Petro M., Svec F., Freché J. M. S.: *Anal. Chem.* 70, 2288 (1998).
98. Foret F., Fanali S., Osscini L., Boček P.: *J. Microcol. Sep.* 1, 190 (1990).
99. Schmid M.G., Gübitz G.: *Enantiomer* 1, 3 (1996).
100. Gassmann E., Kuo J. E., Zare R. N.: *Science* 230, 813 (1985).
101. Fanali S., Osscini L., Foret F., Boček P.: *J. Microcol. Sep.* 1, 190 (1989).
102. Gozel P., Gassmann E., Michelsen H., Zare R. N.: *Anal. Chem.* 59, 44 (1987).
103. Cohen A. S., Paulus A., Karger B. L.: *Chromatographia* 24, 15 (1987).
104. Mosher R. A.: *Electrophoresis* 11, 765 (1990).
105. Desiderio C., Aturki Z., Fanali S.: *Electrophoresis* 15, 864 (1994).
106. Snopek J., Jelínek I., Smolková-Keulemansová E.: *J. Chromatogr.* 438, 211 (1988).
107. Dobashi A., Ono T., Hara S., Jamaguchi J.: *Anal. Chem.* 61, 1984 (1989).
108. Armstrong D. W., Nair U. B.: *Electrophoresis* 18, 2331 (1997).
109. Ingelse B. A., Reijenga J. C., Classens H. A., Everaerts F. M., Flieger M.: *J. High. Resolut. Chromatogr.* 19, 225 (1996).
110. Sinibaldi M., Vinci M., Federici F., Flieger M.: *Biomed. Chromatogr.* 11, 307 (1997).
111. Stalcup A. M., Gahm K. H.: *J. Microcol. Sep.* 8, 145 (1996).
112. Sun P., Landman A., Hartwick R. A.: *J. Microcol. Sep.* 6, 403 (1994).
113. Terabe S., Shibata M., Miyashita Y.: *J. Chromatogr.* 480, 403 (1989).
114. Nishi H., Fukuyama T., Matsuo M., Terabe S.: *J. Microcol. Sep.* 1, 234 (1989).
115. Nishi H., Fukuyama T., Matsuo M., Terabe S.: *Anal. Chim. Acta* 236, 281 (1990).
116. Cole R. O., Sepaniak M. J., Hinze W. L.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 13, 579 (1990).
117. Nishi H., Fukuyama T., Matsuo M., Terabe S.: *J. Chromatogr.* 515, 233 (1990).

118. Dobashi A., Ono T., Hara S., Jamaguchi J.: *J. Chromatogr.* **480**, 413 (1989).
119. Otsuka K., Kashihara M., Kawaguchi R., Koike R., Hisamitsu T., Terabe S.: *J. Chromatogr.* **652**, 253 (1993).
120. Otsuka K., Terabe S.: *Electrophoresis* **11**, 982 (1990).
121. Otsuka K., Kawahara J., Tatekawa K., Terabe S.: *J. Chromatogr.* **559**, 209 (1991).
122. Mazzeo J. R., Grover E. R., Swartz M. E., Petersen J. S.: *J. Chromatogr.* **680**, 125 (1994).
123. Tickle D. C., Okafo G. N., Camilleri P., Jones R. F. D., Kirby A. J.: *Anal. Chem.* **66**, 4121 (1994).
124. Otsuka K., Terabe S.: *J. Chromatogr.* **515**, 221 (1990).
125. Ishihama Y., Terabe S.: *J. Liq. Chromatogr.* **16**, 933 (1990).
126. Ueda T., Kitamura F., Mitchell R., Metcalf R., Kuwana T., Nakamoto A.: *Anal. Chem.* **63**, 2979 (1991).
127. Ueda T., Mitchell R., Kitamura F., Metcalf T., Kuwana T., Nakamoto A.: *J. Chromatogr.* **593**, 265 (1992).
128. Nishi H., Fukuyama T., Terabe S.: *J. Chromatogr.* **553**, 503 (1991).
129. Ševčík J., Lemr K., Stránský Z., Večeřa T., Hlaváč J.: *Chirality* **9**, 162 (1997).
130. Soini H., Riekkola M. L., Novotný M.: *J. Chromatogr.* **608**, 265 (1992).
131. Okafo G. N., Bintz C., Clarke S. E., Camilleri P.: *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 1189.
132. Okafo G. N., Camilleri P.: *J. Microcol. Sep.* **5**, 149 (1993).
133. Terabe S., Miyashita Y., Ishihama Y., Shibata O.: *J. Chromatogr.* **636**, 47 (1993).
134. Aiken J. H., Huie C. W.: *Chromatographia* **35**, 448 (1993).
135. Sun P., Barker G. E., Mariano G. J., Hartwick R. A.: *Electrophoresis* **15**, 793 (1994).
136. Terabe S., Yashima T., Tanaka N., Araki M.: *Anal. Chem.* **60**, 1673 (1988).
137. Foret F., Boček P.: *Electrophoresis* **11**, 661 (1990).
138. Altria K. D., Clark B. J., Filbey S. D., Kelly M. A., Rudd D. R.: *Electrophoresis* **16**, 2143 (1995).
139. Rogan M. M., Altria K. D., Goodal D. M.: *Chromatographia* **38**, 723 (1994).
140. Fanali S., Aturki Z.: *J. Chromatogr.* **694**, 297 (1995).
141. Altria K. D., Goodal D. M., Rogan M. M.: *Chromatographia* **34**, 19 (1992).
142. Quang C., Khaledi M. G.: *Anal. Chem.* **65**, 3354 (1993).
143. Jelínek I., Snopek J., Smolková-Keulemansová E.: *J. Chromatogr.* **557**, 215 (1991).
144. Fanali S.: *J. Chromatogr.* **545**, 437 (1991).
145. Wan H., Blomberg L.G.: *Electrophoresis* **18**, 943 (1997).
146. Gilar M., Uhrová M., Tesařová E.: *J. Chromatogr. B* **681**, 133 (1996).
147. Schmitt T., Engelhardt. J.: *J. Chromatogr.* **697**, 561 (1995).
148. Guttman A., Cooke N.: *J. Chromatogr.* **680**, 157 (1994).
149. Ward T. J.: *LC-GC Int.* **9**, 428 (1996).
150. Wren S. A. C., Rowe R. C.: *J. Chromatogr.* **603**, 235 (1992).
151. Wren S. A. C., Rowe R. C.: *J. Chromatogr.* **609**, 363 (1992).
152. Wren S. A. C., Rowe R. C.: *J. Chromatogr.* **635**, 113 (1993).
153. Wren S. A. C.: *J. Chromatogr.* **636**, 57 (1993).
154. Wren S. A. C., Rowe R. C., Payne R.: *Electrophoresis*, **15**, 774 (1994).
155. Wren S. A. C.: *Electrophoresis* **16**, 2127 (1995).
156. Rawjee Y. Y., Staerk D. U., Vigh G.: *J. Chromatogr.* **635**, 291 (1993).
157. Rawjee Y. Y., Williams R. L., Vigh G.: *J. Chromatogr.* **652**, 233 (1993).
158. Rawjee Y. Y., Vigh G.: *Anal. Chem.* **66**, 619 (1994).
159. Rawjee Y. Y., Williams R. L., Vigh G.: *J. Chromatogr.* **680**, 599 (1994).
160. Rawjee Y. Y., Williams R. L., Buckingham L. A., Vigh G.: *J. Chromatogr.* **688**, 273 (1994).
161. Rawjee Y. Y., Williams R. L., Vigh G.: *Anal. Chem.* **66**, 3777 (1994).
162. Guttman A.: *Electrophoresis* **16**, 1900 (1995).
163. Guttman A.: *LC-GC Int.* **9**, 88 (1996).
164. Alvira E., Garcia J. I., Mayoral J. A.: *Chem. Phys.* **240**, 101 (1999).
165. Chankvetadze B., Blaschke G.: *Electrophoresis*, **20**, 2592 (1999).
166. Gasper M. P., Berthod A., Nair U., Armstrong D. W.: *Anal. Chem.* **68**, 2501 (1996).
167. Rundlett K. L., Armstrong D. W.: *Electrophoresis* **18**, 2194 (1997).

J. Ševčík^{a,b}, E. Tesařová^c, and Z. Stránský^{a,b} (^a*Department of Analytical Chemistry, Palacký University, Olomouc*, ^b*Laboratory of Bioanalytical Research, Palacký University, Olomouc*, ^c*Department of Physical and Macromolecular Chemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague*): **Separation of Chiral Compounds by Capillary Electrophoresis**

The article gives an overview of the state of the art of capillary electrophoresis in the field of chiral separations. The review covers basic principles of separation of enantiomers by electromigration methods. Various separation modes, various chiral selectors, and separation mechanisms responsible for chiral recognition are shown. Factors affecting the resolution, such as concentration of chiral selector(s), electrolyte composition, its concentration, pH, ionic strength, and addition of organic modifiers, are discussed. Possibilities to use mathematical or semiempirical approaches for optimization of the separation system are demonstrated on examples of the most frequently used chiral selectors – cyclodextrins.

SYSTÉM UNIVERZÁLNÍ RTUŤOVÉ ELEKTRODY S MINIATURIZOVANÝM TUŽKOVÝM ČIDLEM

LADISLAV NOVOTNÝ

UNESCO Laboratoř elektrochemie životního prostředí, Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského, Akademie věd České republiky, Dolejškova 3, 182 23 Praha, e-mail:ladislav.novotny@jh-inst.cas.cz

Věnováno prof. RNDr. PhMr. Robertu Kalvodovi, DrSc. k jeho 75. narozeninám

Došlo dne 30.VII.2000

Klíčová slova: sestava miniaturizované rtuťové elektrody, voltametrie, polarografie

Úvod

Rozvoj rtuťových elektrod představuje nedílnou součást rozvoje polarografické, voltametrické a další příbuzné elektrochemické metodiky a instrumentace¹⁻⁶. Zvláště výrazně se projevil v průběhu posledních dvaceti let, zahájený zejména průmyslovým zavedením statické rtuťové kapkové elektrody SMDE (resp. obnovované visící HMDE) americké a české proveniencí⁷⁻¹⁰ počátkem 80. let. Rozdílné konstrukce obou typů systémů odrážely rozdíly v jejich celkovém pojetí. Americké zařízení (SMDE, P.A.R., Princeton, USA), využívalo přerušování toku rtuti kapilárou (s horní přírubou a vodivým povlakem) pomocí přítlačného vřetena, při jeho relativně velkých přítlačných silách, vysoké osové symetrii a odpovídající robustnosti uzávěru. Česká statická rtuťová elektroda⁸⁻¹⁰ SMDE-1, zavedená poprvé v r. 1981 v rámci polarografického analyzátoru PA 3 (Laboratorní přístroje, Praha) u jehož zrodu stál prof. R. Kalvoda, byla naopak založena na užití speciálně upravených kapilár, na malých přítlačných silách, miniaturizovaných uzávěrech a pružně uložených komponentách uzávěrů, bez vysokých nároků na symetrii systému.

Trendem v konstrukci elektroanalytických analyzátorů se v 80. letech staly větší laboratorní (nepřenosné) komplexy¹⁵ se zabudovaným počítačem či řídicí jednotkou. Nahrávala tomu i tehdy poměrně vysoká cena osobních počítačů (PC). Měřicí celky byly více méně stacionární, seřizované při instalaci na uživatelském pracovišti. Tomu též zejména na počátku 80. let odpovídal zdánlivě jediný světový trend rozvoje poměrně robustních laboratorních elektrodových systémů, tvořících součást popsanych analyzátorů. Ve skutečnosti byla však již tehdy vedle zmíněného směru nastartována⁸⁻¹³ nová česká koncepce mobilních, komponentních a miniaturizovaných sestav. Ta pak, jak další vývoj ukázal, ovlivnila a dosud ovlivňuje aktuální konstrukční pojetí, vlastnosti a využití příslušných typů rtuťových i nertuťových elektrod, elektrodových systémů, odpovídajících analyzátorů a elektrochemických celků (např. systém¹⁶⁻¹⁹ PC-ETP).

Cílem tohoto sdělení je informace o koncepci, schématu

a základních funkčních parametrech komponentního elektrodového systému s miniaturizovanou rtuťovou tužkovou elektrodou (UM μ E), využitelného samostatně s generátorem pulsů nebo v kombinaci s komerčně dostupným Eko-Tribo polarografem či jinými typy elektrochemických a dalších systémů.

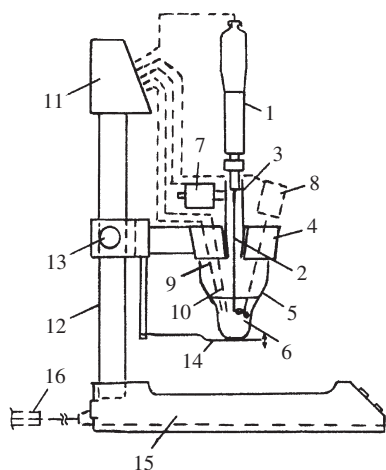
Česká koncepce rozvoje elektrodových a měřicích systémů je a od prvopočátku byla zaměřena především na vývoj jednak nepřenosných celků pro laboratorní využití, jako zmíněná SMDE-1, samostatně či v rámci polarografických analyzátorů (např. PA3, PA4, CPA, SPA1, EDLC, ad.)¹⁸ a jednak přenosných miniaturizovaných sestav, včetně miniaturizované tužkové elektrody.

Zmíněné původní „stolní“ elektrody SMDE byly určeny pro přípravu visících rtuťových kapek o průměru cca 0,5 až 1 mm. Vzhledem ke svým konstrukčním parametrům nedovolovaly však tvorbu kapek malých průměrů okolo 0,1 mm. Ukázalo se, že funkční parametry těchto systémů jsou limitovány např. setrvačností poměrně velkých ovládacích mechanismů, klepátek, s tím spojených vibrací a rezonancí, příliš velkými aktuálními rozměry uzávěrů kapilár, použitými parametry kapilár atd. Česká koncepce řešila tyto problémy v jednotlivých, i když souběžných etapách. Mezi první patřila orientace na méně robustní konstrukce elektrodového bloku (plexisklového, kovového, ap.) „kazetového“ typu⁸⁻¹⁰, představujícího část elektrodového systému, ovládaného podle potřeby zabudovaným nebo externím zdrojem pulsů, osobním počítačem apod.¹¹⁻¹⁴ Spolu se zlepšením kvality elektrodových uzávěrů došlo tak k omezení uvedených nežádoucích faktorů a k rozšíření využitelnosti zařízení i na oblast mini- až semimikroelektrod s průměry okolo 0,1 mm a většími. Tyto výsledky byly a jsou využívány např. v tuzemských zařízeních UM μ E, Tribo II/2, PPS-1 či laboratorní minipolarograf¹⁸.

Výzkumný náskok se u českých zařízení projevoval též např. rozsahem funkčních parametrů elektrodových módů, zahrnujících již od počátku možnosti realizovat rostoucí, krokově rostoucí, stacionární, statické elektrody, mini- a semimikroelektrody, za speciálních podmínek i smršťující se elektrody (s komprimovaným mezifázovým rozhraním) a obnovované meniskové elektrody⁸⁻¹⁴.

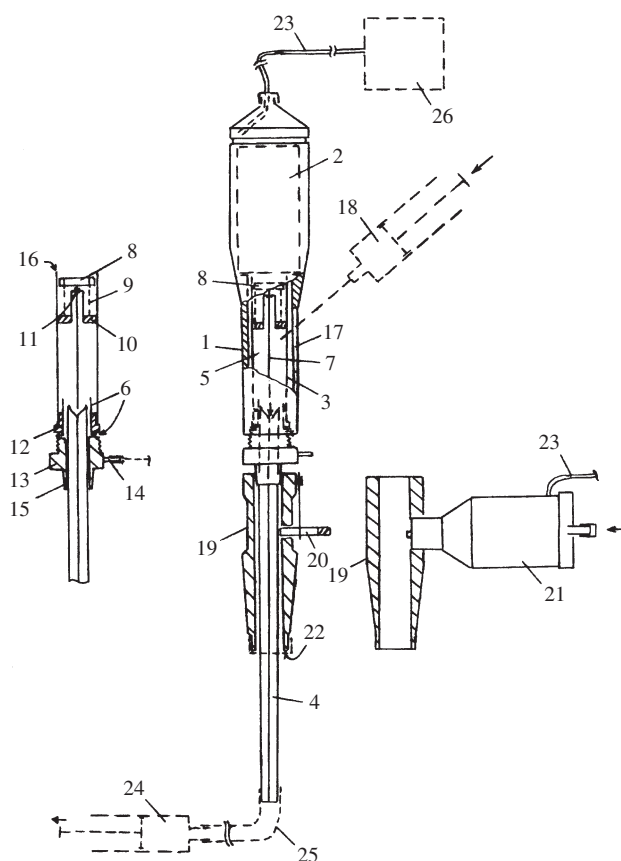
Příklad řešení elektrodového systému a rtuťové tužkové elektrody

Jak je patrné z obr. 1, je miniaturizovaná tužková elektroda 1 s kapilárou 2 přes přechodový segment 3 a hlavu nádoby 4 zasunuta do vnitřního prostoru měrné nádoby 5 s roztokem 6. K přechodovému segmentu 3 je připevněno miniklepátko 7 a hlavou nádoby 4 jsou do roztoku 6 zasunuty míchadlo 8, přívod dusíku 9, referentní a pomocné elektrody 10 a příp. další příslušenství. Komponenty 1, 7, 8, 9, a 10 jsou připojeny k panelu hlavy 11 stojanu 12, opatřeného posuvem 13 systému hlavy nádoby 4 s nastavitelným přítlačným segmentem 14. V podstavě stojanu 15 a částečně též v hlavě 11 jsou umístěny elektronické obvody a prvky pro ovládání UM μ E spojené s měřicím systémem či s převodníkovou kartou 16 zasunutou

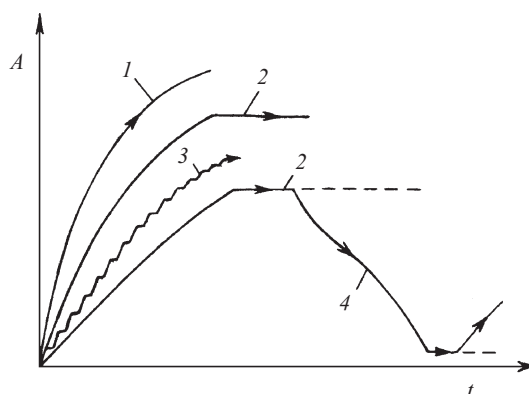
Obr. 1. Příklad uspořádání elektrodového systému (UM μ E)

(popř. zabudovanou) v řídicí jednotce osobního počítače PC stolního typu, laptopu nebo notebooku. Podle potřeby může UM μ E zahrnovat též i ke stojanu 12 připevněný držák s externím zásobníkem rtuti, spojeným s miniaturizovaným zásobníkem rtuti uvnitř tužkové elektrody 1. Podstava stojanu 15, která je opatřena odnímatelnou sběrnou miskou, je přitom se stojkou stojanu 12 spojena rozebíratelně; prostor nad nádobkou 4 může být chráněn krytem.

Příklad miniaturizované tužkové elektrody ilustruje obr. 2. Duté tělo elektrody 1 obsahuje elektromagnet 2 ventilu a zasunutou ampuli 3 s kapilárou 4, s vnitřním zásobníkem 5 a s miniaturizovaným systémem uzávěru horního ústí kapiláry 1. Systém uzávěru může být tvořen drátkovou jehlou 7 spojenou s terčem 8, gumičkou 9 a tvarovaným těsněním 10 s horním kluzným uzávěrem 11, kterým jehla 7 prochází. Přívod 6 prochází zátkou 12, ke které je jeho dolní konec přitlačen elektricky vodivým přitlačným šroubem 13 s elektrickým kontaktem 14 pro polarizaci elektrody, opatřeným ve spodní části trubkovitým výstupkem 15. Horní okraj 16 ampule 3 dosedá k fixovanému elektromagnetu 2. Zařízení je sestaveno a zaplněno rtutí tak, že při aktivaci elektromagnetu 2 např. řídicím systémem UM μ E, externím zdrojem pulsů, apod. dojde k přiskočení feromagnetického terče 8 k tělu elektromagnetu 2 a tím i k otevření jehlového uzávěru v horním (nálevkovitém) ústí kapiláry 4 po dobu aktivace elektromagnetu 2. Skončení aktivace elektromagnetu má za následek opětné dosednutí drátkové jehly 7 do sedla kapiláry 4 a tím přerušení toku rtuti kapilárou. Případné zaplňování kapiláry 4 rtutí se provádí při zvednutém terči 8 s jehlou 7 a za pomoci odsávací 24 s odnímatelnou hadičkou 25. Po straně těla elektrody 1 je vytvořen průzor 17, který slouží ke sledování hladiny rtuti ve vnitřním zásobníku 5 a k jejímu opatrnému doplňování např. injekční stříkačkou 18. Obvykle průsvitnou plastickou stěnu ampule 3 je pak třeba opatrně propíchnout injekční jehlou tak, aby nedošlo k deformaci drátkové jehly 7 a tvarovaného těsnění 10. Otvor po vpichu injekční jehly může být pak přelepen např. izolepou (nejlépe s nalepenou pěnovkou) a podle potřeby využíván ke stejnému účelu opakovaně. Tužková elektroda 1 je zasunuta do měřeného média přímo, nebo přes přechodový segment 19 s mechanickým 20 nebo elektromagnetickým 21 klepátkem zasazeným do hlavy ná-



Obr. 2. Příklad konstrukce miniaturizované tužkové elektrody

Obr. 3. Příklad závislosti plocha elektrody A vs. čas t pro rostoucí (1), stacionární (2), krokově rostoucí (3) a kompresně-expanzní (4) módy, realizovatelné pomocí popsaného elektrodového systému

dobky a podle potřeby opatřeným uzavírací membránou 22. Elektromagnet 2 a elektromagnetické klepátko 21 jsou napájecími přívody 23 podle potřeby spojeni s ovládacím zařízením či zdrojem pulsů 26.

Testovací měření potvrdila využitelnost popsaného elektrodového systému v závislosti na příslušnosti v rostoucích, stacionárních, krokově rostoucích a kompresně-expanzních módech, poskytujících různé závislosti plochy na čase (obr. 3),

označených úseky 1, 2, 3 a po modifikaci též průběhem 4 závislostí plocha elektrody A vs. čas t .

Nejčastěji je dnes přitom využíván režim stacionárních a statických rtuťových mini- a semimikroelektrod (MmE, MsμE) při průměrech okolo 0,1–0,2 mm. Celý cyklus mechanického obnovení elektrody, její elektrochemické předúpravy a další polarizace v rámci aplikovaného režimu měření lze tak řídit a opakovat pomocí PC resp. zadaných parametrů měření, apod.

Závěr

Popsaná koncepce elektrodových systémů významně přispívá k dalšímu rozvoji elektrochemické metodiky a instrumentace, včetně poznávání a využívání nových elektrod a mikroelektrod, režimů s řízenou kompresí a expanzí plochy elektrody, apod. Tato koncepce se mj. významně uplatňuje i při další typové a generační inovaci českých elektrochemických analyzátorů. Četné poznatky lze přitom analogicky využít i pro systémy s rozhraním fází kapalina/kapalina a kapalina/plyn^{11,12,18}, pro konstrukci řady nertuťových popř. kombinovaných čidel, pro popis mezifázových dějů na nertuťových elektrodách a rozhraních (analogicky k elektrodám rtuťovým), atd.

Autor děkuje za finanční podporu grantu GAČR č. 204/97/K084.

LITERATURA

- Heyrovský J., Kůta J.: *Základy polarografie*. NČSAV, Praha 1962.
- Kalvoda R.: Fresenius' J. Anal. Chem. 349, 565 (1994).
- Wang J.: *Analytical Electrochemistry*. VCH, New York 1994.
- Novotný L., v knize: *Electrochemistry for Environmental Protection* (Štulík K., Kalvoda R., ed.), str. 49. UNESCO ROSTE, Venice 1996.
- Volke J.: Chem. Listy 91, 1043 (1997).
- Galus Z.: *Fundamentals of Electrochemical Analysis*. E. Horwood, Warsaw 1994.
- Peterson N. M. : Am. Lab. 11, 69 (1979).
- Novotný L.: AO 202316, AO 202772 a AO 220439.
- Novotný L.: *Kandidátská disertační práce*. ÚFCH J. Heyrovského ČSAV, Praha 1981.
- Novotný L.: *Proceedings 2nd J. Heyrovský Memorial Congress, Prague 1980*, str. 129.
- Novotný L.: US 5173101 a 5294324.
- Novotný L.: *Electroanalysis* 8, 135 (1996).
- Novotný L.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 362, 184 (1998).
- Novotný L., Heyrovský M.: *Croat. Chem. Acta* 70, 151 (1997).
- Metrohm : *Operating Manual for a Model VA Stand*. Metrohm, Herisau 1984.
- POLARO-SENSORS: *Dokumentace k Eko-Tribo polarografu PC-ETP*, Praha 1994.
- Novotný L.: *Vodní hospodářství a ochrana ovzduší* 9, 16 (1994).
- Novotný L.: *Doktorská disertační práce*. ÚFCH J. Heyrovského AV ČR, Praha 1998.
- Dřevínek M., Herout M., Heyrovský M., Jakubetzová A., Kalvoda R., Kopanica M., Navrátil T., Německá I., Novotný F., Novotný L., Šestáková I., Yosypchuk B., Zlatušková B.: *Aktuální informační materiály k PC-ETP*. POLARO-SENSORS, Praha 2000.

L. Novotný (UNESCO Laboratory of Environmental Electrochemistry, J. Heyrovský Institute of Physical Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague): **Universal Mercury Electrode System with a Miniaturized Pen-Type Sensor**

A unit multimode and multipurpose mercury electrode with a miniaturized pen-type sensor is described providing growing, stationary, step-by-step growing, compression and other controlled compression-expansion electrode regimes.

REAKTORY S TUHOU FÁZÍ V PRŮTOKOVÉ INJEKČNÍ ANALÝZE

DALIBOR ŠATÍNSKÝ a ROLF KARLÍČEK

*Katedra analytické chemie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Karlova, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové
e-mail: satinsky@faf.cuni.cz*

Došlo dne 6.III.2000

Klíčová slova: průtoková injekční analýza, reaktory s tuhou fází, přehled

Obsah

1. Úvod
2. Typy reaktorů s tuhou fází
 - 2.1. Enzymové reaktory
 - 2.2. Oxidačně-redukční reaktory
 - 2.3. Iontově výměnné reaktory
 - 2.4. Adsorpční reaktory
 - 2.5. Imunoafinitní reaktory
 - 2.6. Reaktory uvolňující činidlo
3. Závěr

1. Úvod

Technika průtokové injekční analýzy (FIA – Flow Injection Analysis) se stala během posledních dvou desetiletí velmi účinným a mnohostranným nástrojem zejména při zpracování většího počtu vzorků v agrochemických a biochemických laboratořích, při analýzách v oblasti životního prostředí, farmacie aj. Vzestupu využití této techniky bylo dosaženo díky jejím pozitivním analytickým vlastnostem, mezi které patří vyšší dosažitelná selektivita průtokové metody ve srovnání s jejím manuálním protějškem, která je výsledkem využití rozdílné kinetiky chemických reakcí probíhající v průtokovém systému. Velká univerzálnost techniky umožňuje modifikovat metodu způsobu, které zvyšují její citlivost (stopped flow analýza, opakovaný průchod vzorku přes detekční bod) nebo ji snižují (rozmytí zón, ředění vzorku, změny průtokové rychlosti nebo objemu vzorku).

Přímo v průtokovém systému jsou pak kontinuálně prováděny jednotlivé analytické operace za účelem převedení vzorku do stavu vhodného k detekci např. oxidace, redukce, zakoncentrování, ředění, zahřívání aj.

Jednou z důležitých vlastností průtokových analyzátorů je možnost zapojení reaktorů s tuhou fází (SPR – Solid Phase Reactors) vhodně imobilizovaných v uzavřené koloně nebo v reakční cílce do těchto systémů.

Využitím SPR zapojených on-line do průtokového systému FIA analyzátoru se významně rozšiřuje potenciál průtokových metod zvýšením základních analytických parametrů jako jsou

citlivost a selektivita. Obecně se SPR využívají pro svou schopnost reagovat s analyzovanou látkou (enzymatické, imunologické, iontově výměnné, oxidačně-redukční reakce) na svém povrchu, nebo chovat se jako extrakční sorbenty (extrakce, mikroextrakce tuhou fází (SPE, SPME)), nebo uvolňovat reakční činidla¹.

2. Typy reaktorů s tuhou fází

Různé typy SPR, které mohou být kontinuálně začleněny do průtokového systému analyzátorů můžeme rozdělit do dvou skupin podle toho, zda se zúčastní chemické reakce či nikoliv.

Na povrchu prvního typu reaktorů probíhají chemické reakce, přičemž se nejčastěji využívají enzymatické, oxidačně-redukční, iontově-výmenné nebo imunochemické reakce. Příležitostně také reaktory slouží k vhodným oxidačně-redukčním reakcím, které daný analyt převedou na vhodnější oxidační stav analytu, který se pak snadněji účastní vlastní derivatizační reakce¹.

Pro jiné účely, než je zajištění derivatizačních reakcí slouží druhý typ reaktorů, které lze využít jako nosiče nebo extrakční fáze se sorpčními vlastnostmi. Tyto reaktory při jejichž kontaktu se vzorkem nedochází k chemické reakci, fungují jako adsorbenty buď analytu anebo matrice. Běžné typy těchto reaktorů obsahují silikagel, oxid hlinitý, chemicky vázané stacionární fáze, polyamid a další látky. Zvláštní kapitolu těchto reaktorů, u nichž nedochází k chemické reakci s analytem, tvoří materiály uvolňující činidlo.

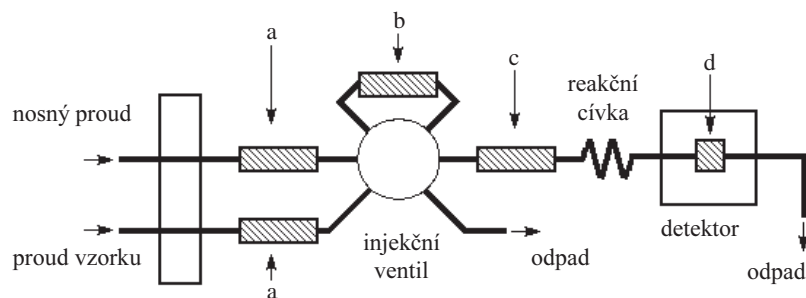
Podle vnitřního uspořádání mohou být SPR rozděleny do dvou obecných skupin:

- 1) otevřené tubulární reaktory, které mají reakční materiál imobilizovaný na stěně kolony. Jejich příprava je náročnější a s tím souvisí i jejich menší využití v analytické praxi,
- 2) plněné kolonové reaktory, které dosahují vyšší reaktivity následkem většího povrchu a tím i většího kontaktu analytu s reaktorem. Tyto reaktory vyžadují jednodušší přípravu a v praxi jsou také častěji využívány².

Jednou z dalších možností jak můžeme SPR klasifikovat, je způsob jejich zapojení do systému. To vyplývá z účelu jejich využití. Pokud reaktor slouží k oxidačně-redukční nebo derivatizační reakci, pak analyt procházející přes reaktor podstupuje reakci a opouští kolonu jako produkt, který je smísen se zbytkem vzorku.

Jestliže je kolona použita pro prekoncentraci nebo k odstranění interferencí z matrice, pak je analyt zadržen chemickými, fyzikálními nebo fyzikálně-chemickými silami na určitou dobu kontaktem s povrchem materiálu, dokud matrice vzorku neopustí reaktor a je odvedena do odpadu. Následnou elucí dojde k vymytí analytu z kolony a k jeho detekci; tímto způsobem se zbavíme balastních složek vzorku a vyhneme se vzniku nežádoucích signálů v detektoru.

Pro FIA analyzátorů existují tedy různé možnosti umístění SPR v systému, které vychází z materiálu a funkce reaktoru



Obr. 1. Možnosti umístění reaktorů s tuhou fází v průtokovém systému FIA analyzátoru

v celém procesu. Obr. 1 naznačuje možné umístění reaktoru v průtokovém systému:

- před injekčním ventil, v nosném proudu nebo v proudu vzorku. Takové umístění reaktoru umožňuje odstranění nečistot přítomných v čidlech nebo je využíváno k uvolnění činidla. Umístění v proudu vzorku slouží k odstranění vlivu matrice a balastních látek přítomných ve vzorku, respektive pro prekoncentraci analytu³,
- ve smyčce injekčního ventilu, pro prekoncentraci analytu, k odstranění balastních látek ve vzorku, pro multianalytické stanovení nebo simultánní stanovení vzorku a blanku^{4,5},
- mezi injekční a detekční jednotku; nejobvyklejší umístění pro SPR v průtokové injekční analýze^{6,7}, s výše uvedenými záměry (viz a) a b)), avšak nejčastěji je takto umístěný reaktor využíván pro derivatizaci stanovované sloučeniny,
- v detekčním systému za účelem sjednocení reakce (retence) a detekce, a tím využití výhod jako zvýšení citlivosti, selektivity, miniaturizace atd., v tomto případě se používá speciální reaktor⁵.

2.1. Enzymové reaktory

Tyto reaktory zapojené on-line do FIA systému pracují s enzymy zakotvenými na nosičích.

Kromě toho, že použitím kolon obsahujících reaktory s imobilizovanými enzymy (IMER – Immobilized Enzyme Reactors), se snižuje výše nákladů na rutinní analýzu, poskytují tyto biokatalyzátory ještě další množství výhod, mezi které patří:

- požadované zjednodušení průtokového systému (eliminace použití dodatečného ventilu pro simultánní dávkování enzymu/vzorku),
- zvýšení citlivosti jako výsledek menšího rozmývání zóny vzorku na rozdíl od použití enzymu jako činidla v roztoku. Tato výhoda je nejvíce patrná při stanovení, které zahrnuje několik různých enzymatických kroků a po několika biokatalytických reakcích je problematické získat detegovatelný produkt. Pro tento účel je pak nejvýhodnější seriové seřazení několika reaktorů za sebou⁸.

Jako nejčastější nosiče enzymů jsou využívány agarosa, celulosa, polyakrylamid, nylon, sklo, silikagel, a někdy též ionexové pryskyřice. Nejrozšířenějším nosičem je sklo. Kovalentně navázaným enzymům se dává přednost před sorpční imobilizací, která představuje slabší vazbu enzymu, projevující se jeho postupnou desorpceí.

Nejobvyklejším způsobem zakotvení je úprava povrchu nosiče aminopropylem a následná aktivace glutaraldehydem. Na takto upravený nosič se pak enzym koordinuje jako ligand.

Imobilizace enzymu probíhá přímo v reaktoru naplněném aktivním nosičem promýváním roztokem enzymu, obvykle několik hodin a při snížené teplotě.

Analytický využitelné enzymy jsou jako látky bílkovinné povahy citlivé na změny teploty a složení okolního prostředí a jejich výroba je poměrně drahá. Zakotvení těchto látek na kolonce reaktoru ve FIA systému vede ke snížení jejich spotřeby a umožňuje také opakovanou aktivaci uvnitř systému⁹.

Na druhé straně je však použití enzymových reaktorů omezeno několika faktory, mezi které patří především postupné klesání aktivity reaktoru v závislosti na čase, použitých reakčních činidlech a teplotě, desorpce enzymu, omezené použití drastických reakčních podmínek (pH, teplota, organická činidla, ionty těžkých kovů) z důvodu poškození enzymu samotného nebo jeho vazby na nosič. Při stanovení je nutné reaktor temperovat na konstantní teplotu pro zachování stejnoměrné aktivity enzymu a tím i reprodukovatelnosti měření.

Jako příklad využití enzymových reaktorů ve FIA může sloužit stanovení glukosy s pomocí imobilizované glukosa-oxidasy¹⁰ a následné reakce peroxidu vodíku s luminolem^{11–13}. V těchto pracích se kombinuje stanovení glukosy s dalšími látkami, laktátem a penicilinem. Při analýze samotného laktátu se využívá reakce enzymového systému dependentního na NAD^+ a vzniklý NADH se deteguje spektrofotometricky^{14–16}. Podobně probíhá i stanovení ethanolu produkovaného buněčnou kulturou, imobilizovaným enzymem je zde alkoholdehydrogenasa¹⁷, stanovení L-fenylalaninu v séru¹⁸, nebo močoviny v tělních tekutinách¹⁹. Další příklady použití enzymových reaktorů ve FIA jsou uvedeny v souhrnné tabulce I.

2.2. Oxidačně-redukční reaktory

Mikrokolony obsahující oxidační nebo redukční materiál jsou využívány v průtokových systémech z důvodu převedení analytu na vhodný oxidační stav pro následnou derivatizační reakci nebo oxidace či redukce analytu na požadovanou sloučeninu.

Oxidačně-redukční materiály jsou umístěny v kolonkách, do kterých jsou plněny samostatně ve formě prášku nebo granulátu o různé velikosti zrn, nebo jsou navázány na inertní nosič, kterým je pak kolona naplněna. Jako nosiče se běžně používají granulované sintrované sklo o velikosti částic několik desetin milimetru ošetřené epoxidovým lepidlem, které slouží k zachycení reakčního materiálu, nebo amberlitové pryskyřice různé zrnitosti (dowex, porovina aj.).

Tyto kolonky nejsou obvykle komerčně vyráběny, ale jsou připravovány přímo na pracovišti pro daný druh analýzy.

Jedná se většinou o pevné plastické hadičky o vnitřním průměru v rozmezí 0,5 mm až 2 mm, které jsou na obou koncích opatřené vatovou zátkou k zamezení vymývání materiálu z kolony. Materiál je do kolony plněn sypáním za sucha, častěji však nasáváním z vodné suspenze pomocí vakua.

Délka kolony pro daný typ stanovení se volí podle velikosti „oxidační“ resp. „redukční“ síly v ní obsaženého materiálu, přitom mezi veličinami platí nepřímá úměra. Účinnost reakční kolony závisí také na aktivním povrchu reaktoru tedy na velikosti částic. Délku reakční kolony je proto nutné optimalizovat vzhledem k její účinnosti a k velikosti částic, jelikož s rostoucí délkou a se snižující se zrnitostí stoupá i účinnost kolony, ale zároveň dochází k většímu rozmývání zóny vzorku a tím i snížení odezvy detektoru. Délka většiny reakčních kolon se pohybuje v rozmezí 0,5–20 cm.

Pro reprodukovatelnost měření je také důležitá rovnoměrnost plnění kolony. Při nerovnoměrném naplnění kolona obsahuje volné prostory, kterými analyt prochází, aniž by zregoval. Při náhodném vniknutí vzduchové bubliny do systému se vzduch zachytí ve volném prostoru a jeho následné uvolnění pak znehodnotí další měření.

Jednou z častých prací zabývajících se redukčními reaktory je stanovení dusičnanů založené na jejich redukci kadmíem na dusitany, které s Griessovým činidlem dávají měřitelnou barevnou reakci^{20–24}. Za pomoci redukčních reaktorů byly také přímo stanoveny i směsi dusitanů a dusičnanů. Princip stanovení spočívá v použití dvojitého injektoru, kterým je vzorek jediným nástřikem dávkován současně do dvou větví průtokového systému. V jedné větvi je zařazen průtokový reaktor s houbovým kadmíem, v němž probíhá redukce dusičnanů na dusitany. Dusitany původně přítomné ve vzorku i vzniklé redukci dusičnanů jsou převáděny na azobarvivo. První odezva detektoru odpovídá obsahu dusitanů a druhá odezva součtu obsahu dusitanů a dusičnanů ve vzorku²⁰.

Jako postkolonový reaktor ve spojení s HPLC byl použit např. oxidační MnO₂ reaktor ke stanovení paralytických toxinů mořských koryšů²⁵. K FIA stanovení oxidovatelných organických sloučenin ve vodných vzorcích byl použit PbO₂ oxidační reaktor vázaný na SiO₂ (cit.²⁶).

Mezi dalšími byly pomocí FIA s využitím oxidačních resp. redukčních reaktorů stanoveny např. obsahy léčiv, vitamínů

nebo iontů kovů převážně ve farmaceutických přípravcích^{7,27–45} (viz tab. I).

2.3. Iontově výměnné reaktory

Mikrokolony s iontově-výměnným materiálem zapojené on-line do průtokového systému se řadí k reaktorům, jejichž povrch se účastní chemické reakce s analytem, avšak svou funkcí patří k extrakčním reaktorům. Ve FIA systémech jsou využívány z důvodu:

- prekoncentrace analytu,
- odstranění interferencí z matrice vzorku použitím vhodného nosiče (anex nebo katex různé iontové síly, inertní nosič s imobilizovaným činidlem – obvykle chelátové skupiny). Toho lze dosáhnout použitím postupně seřazených reaktorů naplněných vhodným materiálem.

Nedostatkem tohoto typu mikroreaktoru je:

- nárůst kompaktnosti materiálu v koloně způsobené kontinuální cirkulací proudu stejným směrem,
- výskyt parazitických signálů v detektoru, po té co matrice vzorku prochází přes detektor během prekoncentračního procesu.

Oba nedostatky mohou být odstraněny jednoduchou změnou v průtokovém systému – umístěním reaktoru ve smyčce dávkovacího ventilu tak, aby retenční probíhala v opačném směru než eluce.

Další nedostatek, který prodlužuje dobu analýzy a jež je způsoben časem určeným k prekoncentraci analytu, je možno odstranit použitím dvou mikrokolon na nichž střídavě probíhá prekoncentrace a eluce, takže se navzájem doplňují¹.

Jedním z aspektů použití těchto reaktorů ve FIA je ovlivnění citlivosti stanovení jejich tvarem. Vyšší citlivost stanovení byla dosažena použitím kónických kolon na rozdíl od kolon cylindrických. Kolona musí být vložena do systému tak, aby proud vzorku procházel dříve užším a pak širším koncem kolony a zadržený analyt musí být eluován v opačném směru k dosažení minimální disperze v koloně⁴⁶. Výše uvedené zásaditosti platí také pro adsorpční reaktory.

Iontoměničové reaktory pro účely FIA jsou připravovány přímo na pracovišti z komerčně dodávaných měničů iontů pro HPLC, jejich plněním do plastických hadiček na konci opa-

Tabulka I

Příklady použití reaktorů s tuhou fází v průtokové injekční analýze

Typ reaktoru	Stanovovaná látka
Enzymový	glukosa ^{10–13} , laktát ^{14–16} , ethanol ¹⁷ , L-fenylalanin ¹⁸ , močovina ¹⁹ , chloramin ⁶⁵ , formaldehyd ⁶⁶ , galaktosa a glycerol ⁶⁷ , neostigmin a galantamin ⁶⁸ , hypoxantin ⁶⁹ , glycerol ^{70,71} , L-lysin ⁷² , fosfáty ⁷³ , kyselina octová ⁷⁴ , glutamát ⁷⁵
Oxidačně-redukční	fenothiazin ⁷ , dusičnany s dusitany ^{20–24} , adrenalin ^{27,28} , sulfadiazin ²⁹ , N-substituované fenothiaziny ³⁰ , noradrenalin ³¹ , vitamin C ³² , vitamin K ₃ ³³ , sulfidy ³⁴ , aspartam ³⁵ , thioridazin ^{36,43} , chlorpromazin ^{36,44} , iproniazid a isoniazid ³⁷ , mangan ³⁸ , kodein ³⁹ , ondansetron ⁴⁰ , kyselina acetylsalicylová ⁴¹ , cystein ⁴² , promethazin ⁴⁵
Iontově výměnný Adsorpční	kaptopril ⁵¹ , Fe ⁶³ , ethanol ⁶⁴ , Cd ⁷⁶ , kyselina monochloroctová ⁷⁷ , Zn, Cd, Pb ⁷⁸ , Cd, Pb, Cu ⁴⁷ , Mo ⁴⁸ , Cd ⁴⁹ , Cd, Co, Cu, Mn, Pb ⁵⁰ , kaptopril ⁵¹ , kyselina salicylová ⁵² , pesticidy ⁵³ , Zn ⁵⁴ , kyanidy ⁵⁵ , směsi aminů ⁵⁶ , Cr ⁷⁹ , pseudoefedrin ⁸⁰ , pesticid naptalam ⁸¹ , polyfenoly ⁸²
Imunoafinitní	L-fenylalanin ¹⁸ , albumin ⁵⁷ , insulin ⁵⁸
Uvolňující činidlo	peroxyd ⁶²

třených vatovou zátkou. Plnění probíhá za pomoci vakuové vývěvy nasáváním pevné fáze iontoměniče v suspenzi s kapalinou (doporučuje se nechat měnič bobtnat v této kapalině přes noc).

Délky reaktorů se liší podle typu stanovení a typu měniče. Rozhodující pro délku reaktoru je především výměnná kapacita měniče (množství iontů, které může měnič poutat svými výměnnými skupinami). K dosažení co nejmenší disperze zóny vzorku je pak délka reaktoru pro většinu stanovení nepřímo úměrná kapacitě iontoměniče. Největší kapacitou se vyznačují pórovité pryskyřice s organickou maticí, menší kapacitu mají měniče chemicky vázané na pórovitém silikagelu.

Výhodou silných měničů je úplná disociace funkčních skupin v širokém rozsahu hodnot pH (1 až 14 pro měniče kationtů a 0 až 12 pro měniče aniontů na bázi organických pryskyřic a 2 až 8 pro měniče na bázi silikagelu), která umožňuje použití silných kyselin a bazí jako nosného proudu nebo elučního činidla. Je možná i jejich aktivace přímo v průtokovém systému nebo v průběhu stanovení.

Iontoměničové fáze se využívají také k detekci vložením těchto reaktorů do průtokové cely konvenčních nedestruktivních molekulárních optických detektorů. Nejčastěji měřeními veličinami jsou absorbance, fluorescence a reflektance. Způsob provedení detekce s využitím iontoměniče využívají:

1. reakce činidla a analytu v roztoku a retence produktu na iontoměniči, který je vhodný u velmi selektivní reakce,
2. selektivní adsorpce analytu na pryskyřici s následující reakcí s vhodným činidlem,
3. ireverzibilní adsorpce činidla na iontoměniči a pozdější reakce s analytem, který je použitelný, jestliže reakční produkt nemůže být přímo adsorbován na iontoměnič⁵.

2.4. Adsorpční reaktory

Volba náplně reaktoru pro FIA stanovení požadovaného analytu se řídí základními charakteristikami jako jsou:

funkčnost – tj. vztah afinity sorbentu k různým organickým sloučeninám, která je určena mírou polaritity sorbentu resp. analytu;

velikost a tvar částic – ovlivňující hydrodynamické podmínky v koloně (turbulentní a molekulová difúze v nosném proudu);

velikost povrchu – související s počtem aktivních míst. Sorbenty mající vysokou povrchovou velikost na jednotku hmoty mají vysoký počet aktivních míst a dosahují vyššího stupně kumulace látek z roztoku;

velikost pórů – ovlivňující prostup molekul do sorbentu. Bylo by možné soudit, že malé póry jsou vhodné pro účinnou kumulaci. Při realizaci tohoto přístupu, kdy velikost pórů je porovnatelná s rozměry molekul, je prostup látky velice obtížný. Při použití sorbentu s větší velikostí pórů, schopnost sorpce roste;

chemická inertnost – charakterizující změnu kvality povrchu a tím i reprodukovatelnost v sorpčním procesu.

Nejznámějším a nejužívanějším materiálem pro adsorpční reaktory ve FIA je chemicky modifikovaný silikagel, oxid hlinitý, oxid křemičitý, dále polymerní sorbenty – akrylátové polymery, styren-divinylnbenzenové kopolymery, polypropyleny, polytetrafluoroethyleny, nebo chelatační sorbenty obsahující kovové ionty a jiné další.

Tyto reaktory jsou připravovány přímo na pracovišti z te-

flonových hadiček a komerčně dostupných sorbentů podobně jako iontové výměnné reaktory. Plnění probíhá za vlhka ze suspenze organického rozpouštědla a sorbentu. Délka těchto adsorpčních reaktorů zapojených do FIA systému se pohybuje v rozmezí 5 až 70 mm. Použití reaktorů kratších pozitivně ovlivňuje disperzi zóny vzorku, ale na druhé straně snižuje sorpční kapacitu reaktoru. V případě nižší afinity analytu k sorbentu (např. použití chemicky vázané nepolární stacionární fáze) dochází pak k předčasnému vymývání analytu z kolonky již během prekoncentračního kroku. Tomuto jevu můžeme zabránit změnou sorbentu nebo nosného proudu, popř. jeho průtokové rychlosti, nebo množstvím sorbentu v kolonce (prodloužení reaktoru). Použití adsorpčních reaktorů delších než 70 mm je ve FIA systémech zcela vyjíméčné. Dochází tím ke značnému rozmývání zóny vzorku, nežádoucímu prodloužení doby analýzy a eluce analytu z reaktoru není dostatečně náhlá pro cílené dosažení maximální odezvy.

Pravděpodobně největší nevýhoda v uplatnění těchto reaktorů ve FIA systémech spočívá v nemožnosti použití koncentrovaných organických rozpouštědel jako elučních činidel. Toto omezení je způsobeno přítomností pryžových hadiček na peristaltickém čerpadle, které zajišťují kontinuální aspiraci činidel do celého FIA systému. Při použití organických činidel ve vyšší než 50% koncentraci dochází k porušení těchto hadiček a tím i k nerovnoměrnému průtoku činidla, vzniku falešných signálů nebo zvyšování nulové linie při použití spektrofotometrického detektoru v důsledku změn v indexu lomu, a také často ke znehodnocení adsorpčního reaktoru.

Adsorpční reaktory slouží především pro prekoncentraci, zvláště kovových iontů pro jejich stanovení AAS detekcí^{47–50}, nebo jsou využívány pro zakoncentrování organických sloučenin z vodných roztoků.

Značná výhoda těchto reaktorů spočívá v jejich použití při analýze vzorků se složitou maticí, jako jsou odpadní vody, biologické materiály (krev, sérum, mozkomíšní mok, moč) apod., kdy je požadována prekoncentrace analytu a odstranění balastních látek. Při zařazení ochranné předkolonky do proudu vzorku ve FIA systému je pak možné analyzovat vzorek bez předchozích úprav. Technika FIA-SPE se uplatnila při stanovení např. captoprilu⁵¹, kyseliny salicylové⁵², pesticidů⁵³ aj.

Jedním z méně známých sorbentů je polyurethanová pěna, která byla použita ve FIA poprvé k prekoncentraci zinečnatých iontů jako thiokyanátových komplexů z biologického materiálu⁵⁴.

Méně obvyklé je použití adsorpčních reaktorů jako fázových separátorů při extrakci z kapaliny do kapaliny¹. Tyto kolony se schopností selektivně adsorbovat vodní fázi mohou nahradit použití obvyklých jednotek pro kontinuální separační procesy.

Adsorpčních materiálů je také možno použít ke tvorbě průtokových senzorů umístěných v průtokových celách, dovolujících individuální a multianalytické stanovení. Tak je tomu v případě fluorimetrického stanovení kyanidů, které je založeno na retenci kyanidových komplexů s beryliem na chemicky modifikovaném silikagelu a jeho simultánním monitorování. Citlivost této metody je pak zvýšena o 2 řády ve srovnání s konvenční FIA metodou⁵⁵.

Tyto reaktory umístěné v detekčních celách také umožňují multianalytické stanovení s využitím spektrofotometrie s diodovým polem, jako je tomu například u analýzy ternárních směsí aminů⁵⁶.

2.5. Imunoafinitní reaktory

Tyto typy reaktorů se uplatňují zejména při stanovení antigenních materiálů makromolekulárního charakteru při klinicko-biochemických či imunologických vyšetřeních^{18,57,58}. Patří mezi separační reaktory, které využívají afinitní ligandy (protilátky) imobilizované na stěnu reaktoru nebo na inertní nosič k vytvoření selektivní stacionární fáze pro analýzu vzorku.

Po nadávkování vzorku do kolony se analyt specificky váže na imobilizovanou protilátku a ostatní komponenty vzorku jsou bez zadržení eluovány. Tvorba těchto biospecifických komplexů mezi analytem a afinitním ligandem je velice citlivá na prostředí a je podmíněna nejen vhodným pH, iontovou silou, teplotou, ale i koncentrací kovových iontů, případně kofaktorů nebo jiných důležitých látek. Při změně reakčních podmínek v koloně (složení pufru, rozpouštědla, pH, gradientu iontové síly, teploty nebo pomocí konkurenčních ligandů, alosterických efektů, koenzymů, disociačních činidel aj.) můžeme analyt následně eluovat a detegovat^{59,60}.

Jako afinitní ligand pro izolace biologicky aktivních látek je vhodná každá sloučenina, která s nimi tvoří biospecifické, pevné a reverzibilní komplexy.

Nevýhodou těchto reaktorů je jejich náročná příprava, která spočívá ve složité imobilizaci afinitních ligandů na nosič⁶¹.

Afinitní ligand musí splňovat dvě základní podmínky: musí obsahovat funkční skupinu použitelnou pro kovalentní vazbu na tuhý nosič, aniž se tím naruší komplementární vazebné místo nutné pro tvorbu specifického komplexu a po imobilizaci mít dostatečnou afinitu pro izolovanou látku. Mnoho požadavků je také kladeno na nosič afinitního ligandu umístěného v reaktoru: nerozpustnost, nulová adsorpční kapacita, dostatečná permeabilita a velký specifický povrch, vysoká pevnost, chemická reaktivita dovolující vazbu afinitního ligandu, chemická stabilita za podmínek vyžadovaných pro vazbu, adsorpci, desorpci i regeneraci, hydrofilní charakter aj.

Z biopolymerních nosičů je nejčastěji používána agarosa, dále celulóza, dextran, polyakrylamid aj. Pro imobilizaci glykoproteinů je v současné době nejvíce užívána vazba přes cukernou složku do níž je oxidací zavedena aldehydová skupina, která se váže na hydrazinové deriváty tuhých nosičů.

Nevýhodou imunoafinitních reaktorů je také velká závislost tvorby komplexů biologicky aktivních látek s afinitními ligandy na mikrookolí. To je často příčinou časové náročnosti vypracování podmínek přípravy optimálních bioadsorbentů i podmínek pro sorpci a desorpci izolovaných látek. Optimální sorpční a desorpční podmínky reaktoru zjistíme ze stanovení adsorpce izolované látky na imobilizovaný afinitní ligand v závislosti na pH, iontové síle, povaze pufrů, teplotě, případně i dalších faktorech^{59,60}.

Pracovní podmínky těchto reaktorů jsou odlišné podle jednotlivých typů stanovení, tak jako u výše uvedených reaktorů. Je zde ale kladen důraz na omezené reakční podmínky (silné kyseliny a zásady, koncentrovaná organická činidla). Při použití drastických podmínek pro uvolnění stanovované látky dochází k narušení vazby nosič–afinitní ligand a tím ke znehodnocení celého reaktoru. Většina imunoafinitních reaktorů pracuje v rozmezí pH 5–11. Délka většiny těchto reaktorů se pohybuje v rozmezí 0,5–5 cm, (podobně jako u adsorpčních reaktorů) a volí se podle množství navázaného a aktivního afinitního ligandu.

2.6. Reaktory uvolňující činidlo

Využití těchto reaktorů ve FIA systémech nedosáhlo zatím většího rozšíření. Jejich zapojení do systému umožňuje eliminovat použití čerpadla pro přidávání reagensů, použití směšovacího T-kusu a odstranění problémů vznikajících z nedokonalého mísení zóny vzorku s přidávanými činidly. Další výhodou těchto reaktorů je minimální příspěvek k rozšíření separovaných zón, a tím zvýšení citlivosti stanovení díky sníženému ředění vzorku. Jejich celková výhoda vyplývá ze zjednodušení celého systému, který pak pracuje bez nadbytečných kanálů dávkujících činidlo.

Tyto reaktory jsou uzavřeny v minikolonách tzv. cartridge (např. peroxyoxalát pro chemiluminiscenční stanovení peroxidů⁶²) nebo jsou vázány na nosiči. Imobilizovaných činidel se také ve FIA využívá k detekci, pokud jsou činidla vhodně imobilizována na stěnu průtokové cely.

Další modifikací tohoto typu reaktorů jsou reaktory z dutých vláken. Reaktory využívají několika dutých vláken např. ze sulfonovaného polyethylenu která jsou ponořena do roztoku činidla a zavedena do FIA systému.

3. Závěr

Jednoduchost, rychlost, flexibilita a plná automatizace jsou hlavní charakteristiky metody FIA a umožnily uplatnění této techniky v agrochemických a biochemických laboratořích, při analýzách v oblasti životního prostředí, ve farmacii v kontrole kvality a účinnosti léčiv, při disolučních testech, stabilitních studiích apod. Se zvyšujícími se požadavky na citlivost a selektivitu analytických metod, na snížení spotřeby činidel a na zjednodušení přípravy vzorku před stanovením je i v technice FIA nutné udržení tempa s moderními analytickými postupy. Řešení těchto požadavků spočívá v zapojení různých typů reaktorů s tuhou fází přímo do průtokového systému FIA analyzátoru.

Hlavní aspekty současného trendu v technice FIA-SPR můžeme rozdělit do 4 skupin:

1. miniaturizace jako prostředek snížení spotřeby činidel a vzorků; změny systému z makroskopického na mikroskopický,
2. úprava vzorku přímo v průtokovém systému (prekoncentrace, derivatizace, odstranění vlivu matrice) a tím zvýšení selektivity a citlivosti,
3. sjednocení reakce (retence) a detekce za účelem využití všech výhod tohoto zapojení (zvýšená citlivost, selektivita, frekvence dávkování),
4. požadavek na multianalytické stanovení díky jednoduchému konvenčnímu detektoru, vhodnému reaktoru s tuhou fází a FIA systému.

Spojení FIA-SPR předurčují tuto techniku jako velmi vhodný prostředek všude tam, kde je nutno analyzovat velké série vzorků (rutinní analýzy vod, potravin, krve, moči), sledovat změny koncentrace analytů v průběhu různých procesů (řízení a optimalizace biotechnologických výroby, monitorování hladin léčiv nebo jejich metabolitů v tělních tekutinách pacientů) a zejména tam, kde je stanovovaný analyt součástí složité matrice. Ve všech těchto rozmanitých oblastech se technika FIA-SPR uplatňuje také z důvodu snížení objemu vzorků i spotřeby činidel a tím i nižšího zatížení životního prostředí díky menšímu množství odpadu.

Z uvedených skutečností vyplývá, že potenciál využití FIA s on-line zapojením reaktorů s tuhou fází je v analytické praxi značný a bude se zřejmě dále rozšiřovat.

Autoři děkují Ministerstvu školství a mládeže za finanční podporu této práce (projekt MSM 111600001).

LITERATURA

- Luque de Castro M. D.: Trends Anal. Chem. 11, 149 (1992).
- Ortiz S. L., Calatayud J. M.: Anal. Lett. 28, 971 (1995).
- Faria L. C., Pasquini C., Oliviera G.: Analyst (London) 116, 118 (1991).
- Karlsson M., Person J. A., Möller J.: Anal. Chim. Acta 244, 109 (1991).
- Kojlo A.: J. Pharm. Biomed. Anal. 10, 785 (1992).
- Koljo A.: J. Pharm. Biomed. Anal. 8, 663 (1990).
- Polášek M., Dolejšová J., Karlíček R.: Pharmazie 53, 168 (1998).
- Zaitsu K., Jamagishi K., Ohkura Y.: Chem. Pharm. Bull. 36, 4488 (1988).
- Paseková H., Polášek M., Solich P.: Chem. Listy 93, 354 (1999).
- Solich P., Polášek M., Karlíček R.: Potravinářské Vědy 9, 81 (1991).
- Liu X., Hansen E. H.: Anal. Chim. Acta 326, 1 (1996).
- Min R. W., Nielsen J., Willadsen J.: Anal. Chim. Acta 320, 199 (1996).
- Min R. W., Willadsen J.: Anal. Chim. Acta 312, 149 (1995).
- Shu H., Hakanson H., Mattiasson B.: Anal. Chim. Acta 283, 727 (1993).
- Shu H., Hakanson H., Mattiasson B.: Anal. Chim. Acta 300, 277 (1995).
- Mori H.: Anal. Lett. 32, 1301 (1999).
- Hedenfalk M., Mattiasson B.: Anal. Lett. 29, 1109 (1996).
- Kiba N., Itagaki A., Furusawa M.: Talanta 44, 131 (1997).
- Solich P., Polášek M., Karlíček R.: Anal. Chim. Acta 218, 151 (1989).
- Karlíček R., Dolejšová J., Polášek M.: Agrochémia 28, 119 (1988).
- Beljaars P. R., Dijk R., Horst G. M.: J. AOAC Int. 77, 1522 (1994).
- Maimo J., Cladera A., Mas F.: Int. J. Environ. Anal. Chem. 35, 161 (1989).
- Ensafi A. A., Kazemzadeh A.: Anal. Chim. Acta 382, 15 (1999).
- Gabriel D., Baeza J., Valero F.: Anal. Chim. Acta 359, 173 (1998).
- Lawrence J. F., Wong B.: J. Chromatogr. 755A, 227 (1996).
- Ruchti B., Schramm C., Kubitschko S.: Fresenius' J. Anal. Chem. 342, 822 (1992).
- Kojlo A., Calatayud J. M.: Anal. Lett. 28, 239 (1995).
- Kojlo A., Calatayud J. M.: Anal. Chim. Acta 308, 334 (1995).
- Romero A. M., Benito C. G., Calatayud J. M.: Anal. Chim. Acta 308, 451 (1995).
- Kojlo A., Calatayud J. M.: Talanta 42, 909 (1995).
- Ortiz S. L., Rivas G. A., Calatayud J. M.: Microchim. Acta 126, 69 (1997).
- Pereira A. V., Filho O. F.: Anal. Chim. Acta 366, 55 (1998).
- Torró I. G., Mateo J. V. G., Calatayud J. M.: Analyst 122, 139 (1997).
- Staden J. F., Kleuver L. G.: Anal. Chim. Acta 369, 157 (1998).
- Fatibello F. O., Marcolino J. L. H., Pereira A. V.: Anal. Chim. Acta 384, 167 (1999).
- Catala I. M., Lauherta Z. L., Calatayud J. M.: Lab. Rob. Autom. 10, 33 (1998).
- Bautista G. J. A., Mateo G. J. V., Calatayud M. J.: Anal. Lett. 31, 1209 (1998).
- Staden J. F., Kleuver L. G.: Anal. Chim. Acta 350, 15 (1997).
- Barnett N. V., Bowser T. A., Gerardi R. D., Smith B.: Anal. Chim. Acta 318, 309 (1996).
- Zamora L. L., Calatayud J. M.: Anal. Chim. Acta 300, 143 (1995).
- Rivas G. A., Calatayud J. M.: Talanta 42, 1285 (1995).
- Icardo C. M., Zamora L. L., Calatayud J. M.: Analyst 123, 1685 (1998).
- Paz L. J. L., Mateo G. J. V., Calatayud J. M.: J. Flow Injection Anal. 14, 15 (1997).
- Kojlo A.: Anal. Lett. 30, 2353 (1997).
- Calatayud J. M., Mateo G. J. V.: Anal. Chim. Acta 264, 283 (1992).
- Fang Z., Welz B.: J. Anal. At. Spectrom. 4, 543 (1989).
- Fang Z., Guo T., Welz B.: Talanta 38, 613 (1991).
- Futura N., Brushwyler K. R., Hieftje G. M.: Spectrochim. Acta 44B, 349 (1989).
- Domínguez M. F. E., Biurrun M. C. Y., Barrera M. P. B.: Analyst 123, 105 (1998).
- Nickson R. A., Hill S. J., Worsfold P. J.: Anal. Chim. Acta 351, 311 (1997).
- Karlíček R., Solich P.: Pharmazie 53, 549 (1998).
- Karlíček R., Gargoš M., Solich P.: J. Flow Injection. Anal. 13, 45 (1996).
- Diaz G. T., Valenzuela A. M. I., Salinas F.: Anal. Chim. Acta 384, 185 (1999).
- Jesus D. S., Cassella R. J., Ferreira S. L. C.: Anal. Chim. Acta 366, 263 (1998).
- Chen D., Luque de Castro M. D., Valcárcel M.: Microchem. J. 44, 215 (1991).
- Band B. F., Lázaro F., Luque de Castro M. D.: Anal. Chim. Acta 229, 177 (1990).
- Ruhn P. F., Taylor J. D., Hage D. S.: Anal. Chem. 66, 4265 (1994).
- Khokhar M. Y., Miller J. N., Seare N. J.: Anal. Chim. Acta 290, 154 (1994).
- Hermanson G. T., Mallia A. K., Smith P. K.: Immobilized Affinity Ligand Techniques. Academic Press, New York 1992.
- Turková J.: Bioaffinity Chromatography. Elsevier, Amsterdam 1993.
- Ruhn P. F., Garver S., Hage D. S.: J. Chromatogr. 669, 9 (1994).
- Zoonen P., Kamminga D. A., Gooijer C.: Anal. Chim. Acta 167, 249 (1985).

63. Staden J. F., Kleuver L. G.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 362, 319 (1998).
64. Chen Z., Yu J. J., Hibbert D. B.: *Electroanalysis* 9, 541 (1997).
65. Buck S., Stein K., Schwedt G.: *Anal. Chim. Acta* 390, 141 (1999).
66. Kiba N., Sun L. M., Yokose S.: *Anal. Chim. Acta* 378, 169 (1999).
67. Vega F. A., Nunez C. G., Weigel B.: *Anal. Chim. Acta* 373, 57 (1998).
68. Ghous T., Townshend A.: *Anal. Chim. Acta* 372, 379 (1998).
69. Numata M., Funazaki N., Ito S.: *Talanta* 43, 2053 (1996).
70. Kiba N., Azuma N., Furusawa M.: *Talanta* 43, 1761 (1996).
71. Prodromidis M. I., Stalikas C. D., Tzouwara-Karayanni S. M.: *Talanta* 43, 27 (1996).
72. Chen R. L. C., Lee M. H., Matsumoto K.: *Anal. Sci.* 12, 87 (1996).
73. Noguchi A., Aoki T., Oshima T.: *J. Flow Injection Anal.* 12, 209 (1995).
74. Tservistas M., Weigel B., Schuegerl K.: *Anal. Chim. Acta* 316, 117 (1995).
75. Stalikas C. D., Karayannis M. I., Tzouwara-Karayanni S. M.: *Talanta* 41, 1561 (1994).
76. Couto C. M., Lima J. L., Conceicao M., Montegreno B. S. M.: *Anal. Chim. Acta* 366, 155 (1998).
77. Puig-Lleixa C., Bartroli J., Del-Valle M.: *Anal. Chim. Acta* 359, 311 (1998).
78. Elsholz O., Schulze G.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 353, 119 (1995).
79. Ma W. H., Cai R. X., Chen D. H.: *Lab. Rob. Autom.* 11, 141 (1999).
80. Chen H. W., Fang Z. L.: *Anal. Chim. Acta* 394, 13 (1999).
81. Galeano D. T., Acedo V. M. I., Salinas F.: *Anal. Chim. Acta* 384, 185 (1999).
82. Arce L., Tena M. T., Rios A.: *Anal. Chim. Acta* 359, 27 (1998).

D. Šatínský and R. Karlíček (*Department of Analytical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Charles University, Hradec Králové*): **Solid Phase Reactors in Flow Injection Analysis**

The review deals with the principles and practical applications of the use of the solid phase reactors in FIA (flow injection analysis) techniques. The article is confined to the advances in the development of the analysis of samples in the flow systems, mainly on-line preparation (derivatization, separation and preconcentration) of samples inside the flow injection manifold. The article involves 82 references covering the period from 1985 to 1999.

ISOPRENOIDY V ATMOSFÉŘE

ZBYNĚK VEČEŘA

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

Došlo dne 27.IV.2000

Klíčová slova: isoprenoidy, vznik, chemické reakce isoprenoidů v atmosféře, stanovení

Obsah

1. Úvod
2. Atmosférické emise isoprenoidů
3. Reaktivita isoprenoidů a vliv jejich reakčních produktů na lesní porosty
4. Historické mezníky při stanovení isoprenoidů v ovzduší
5. Závěr

1. Úvod

Terpeny jsou přírodní uhlovodíky, vznikající jako metabolity některých rostlin, převážně stromů, a zejména jehličnanů^{1,2}. Ty, které významně ovlivňují chemické procesy v atmosféře (obr. 1), se vyznačují nepříliš vysokými body varu (155–185 °C) a nízkou polaritou molekuly, která je příčinou jejich relativně vysoké těkavosti³. Tyto sloučeniny patří k rozsáhlé skupině rostlinných látek (isoprenoidů), do níž zahrnujeme i zdánlivě tak rozdílná chemická individua, jako jsou kaučuk, karoten a kyselina giberelová. Zvláštní postavení mezi isoprenoidy má isopren.

Systematika terpenové chemie dělí terpeny na monoterpeny, seskviterpeny, diterpeny, triterpeny, tetraterpeny, sesterterpeny a polyterpeny. Tyto názvy vznikly historickým vývojem a označení vychází ze sloučenin, které obsahují dvě isoprenové jednotky. Monoterpeny obsahují dvě isoprenové jednotky, diterpeny čtyři isoprenové jednotky, triterpeny šest isoprenových jednotek. Seskviterpeny mají tři isoprenové jednotky a sesterterpeny pět isoprenových jednotek. Sloučeniny s vyšším počtem uhlíků než patnáct mají vysoké body varu a minimální těkavost. V přírodě lze také nalézt skupinu polyterpenů představovanou kaučukem a gutaperčou, což jsou polymery se zanedbatelnou tenzí par.

Biochemie tvorby isoprenoidů byla, a stále je rozsáhle zkoumána a jsou známy některé detaily jejich biosyntézy^{1,2}. Při těchto reakcích lze dospět až k iridoinovým alkaloidům, včetně kyseliny abscisové. Isopren se tvoří v chloroplastu působením isoprensintasy^{4–6} na 3,3-dimethylallyl-difosfát v přítomnosti hořečnatých iontů.

Stále nevíme, proč některé rostliny terpeny produkují. Předpokládá se, že jde o určitou formu chemické obrany

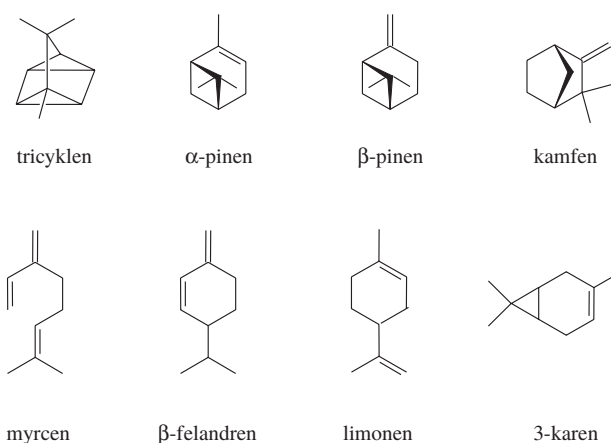
rostlin před hmyzem a cizopasníky⁷. Tyto sloučeniny působí i jako chuťová bariéra pro býložravce^{8–10}. Produkci isoprenu rostlinami nelze v současné době uspokojivě vysvětlit. Podle současných poznatků jde o metabolickou poruchu, nemající přímou souvislost s biosyntézou ostatních isoprenoidů.

Některé terpeny mají praktické využití. V kosmetice a v lékařství tvoří složky zvláštní skupiny léčiv s antibakteriálními účinky (pineny, limonen, felandren, kamfen, karen). Na terpeny bohaté rostlinné silice se průmyslově získávají z rostlinného materiálu, například z borové kůry nebo z terpentýnu destilací s vodní parou¹¹. V etherických olejích pocházejících z jehličnanů převládají monoterpeny¹¹. Jsou to zejména α -pinen a β -pinen, v menší míře limonen, β -felandren, 3-karen a kamfen, vzácněji jsou v nich obsaženy tricyklen, terpinolen, α -terpinen a γ -terpinen, případně bicyklický uhlovodík ze skupiny seskviterpenů, známý pod názvem kadinen. V těchto kapalných silicích je možno nalézt i kyslíkaté deriváty monoterpenů, jako jsou 1,8-cineol (eukalyptol), kafr, linalool, citranelol a bornyl-acetát. Vzácně se v přírodě vyskytují sabinen (v jalovci), thujen (v thuji), nebo santen (v sibiřské jedli)¹².

2. Atmosférické emise isoprenoidů

Těkavé isoprenoidy patří ke skupině biogenních sloučenin, které je možné obecně zařadit mezi těkavé (VOC) nebo polotěkavé (SVOC) organické sloučeniny. V globálním měřítku je produkce tohoto druhu isoprenoidů významná¹³ a zásadním způsobem ovlivňuje chemii atmosféry. Emise z rostlin principiálně kontrolují oxidační kapacitu kontinentální oblasti troposféry. Tyto biogenní uhlovodíky jsou prekurzory troposférického neantropogenního ozonu¹⁴, ovlivňují koncentrace OH radikálů a oxidu uhelnatého v atmosféře^{14–16}. Isoprenoidy byly také identifikovány¹⁷ jako významné výchozí reaktanty při okyselování životního prostředí.

Zejména lesní porosty emitují do atmosféry velká množství těchto reaktivních uhlovodíků. Terpeny a isopren se ze živých i z odumřelých stromů uvolňují do atmosféry v tako-



Obr. 1. Strukturní vzorce nejdůležitějších těkavých terpenů

vém množství, že i přes narůstající průmyslové znečištění představují hlavní zdroj uhlíku v atmosféře. Biogenní emise řádově převyšují emise antropogenně emitovaných organických sloučenin¹⁸.

Jako první se pokusili odhadnout produkci biogenních sloučenin Rasmussen s Wentem¹⁹ v roce 1965. Podle jejich odhadu se do atmosféry uvolňuje ročně 432 Tg uhlíku/rok, který pochází z biogenně produkovaných organických sloučenin. V následujícím období byly činěny pokusy zpřesnit a strukturovat tyto emise^{13,20–23}. Podle posledních poznatků emise těchto sloučenin odpovídají ekvivalentu 1150 Tg uhlíku za rok²⁴ a jsou strukturovány následovně: 503 Tg uhlíku/rok (isopren), 127 Tg uhlíku/rok (monoterpeny), 260 Tg uhlíku/rok (reaktivní organické těkavé látky), zbývající část emisí, 260 Tg uhlíku/rok, tvoří ostatní organické sloučeniny.

Kromě toho, že přítomnost terpenů a isoprenu v atmosféře ovlivňuje obsah fotochemických oxidantů, kyslíčnicku uhelnatého a vodíku, je tato skupina uhlovodíků spojována s atmosférickým úkazem, nazvaným modrý opar (Blue Haze), jehož existenci dokládají četné historické názvy, např. v USA „Blue Ridges” nebo „Blue Mountains” v Austrálii. Jedná se o modře zbarvený opar aerosolového charakteru vznikající někdy v létě za jasných bezvětřných dnů nad lesy, případně nad lukami, v místech vzdálených od míst průmyslového znečištění. Tento jev poprvé diskutoval Went²⁵, který se domníval, že částice modrého aerosolu jsou bituminosního a asfaltického charakteru a vznikají oxidačními reakcemi par terpenů v inverzní vrstvě vzduchu. V současnosti předpokládáme, že modrý opar je přímo pozorovatelným důsledkem fotochemických reakcí probíhajících v atmosféře^{26–27}, podle následujícího schématu: seskviterpeny reagují s OH radikály, NO₃ radikály a ozonem²⁶ v reakcích, jejichž produkty jsou oxygenované formy seskviterpenů. Tyto sloučeniny jsou méně těkavé a shlukují se do mikroskopických částic organického aerosolu (biogenní aerosol).

Struktura biogenních emisí isoprenoidů je geneticky podmíněna^{28,29}. Bylo však zjištěno, že ani v rámci jednoho ekotypu nelze extrapolovat složení biogenních sloučenin v jednom druhu rostlin do geneticky příbuzného druhu rostlin. Jako příklad lze uvést dub červina (*Quercus ilex*), který, na rozdíl od ostatních druhů dubu, v jejichž emisních charakteristikách převažuje isopren, emituje do okolí významná množství monoterpenů³⁰. Při prvním přiblížení však platí, že opadavé druhy stromů uvolňují zejména isopren, jehličnany uvolňují převážně terpeny³¹. V lokálním měřítku mají vliv na obsah a zastoupení isoprenoidů v lesním vzduchu tyto faktory: botanické složení biotopu, množství isoprenoidů akumulovaných ve vegetaci a jejich těkavost, vegetační období, denní doba, meteorologické podmínky, pedologické poměry, teplota „listů“ a intenzita osvětlení^{32,33}. V závislosti na těchto parametrech se koncentrace terpenů v ovzduší mění v rozmezí tisícín až několika jednotek ppb(v/v). Maximální, jednotkové ppb(v/v) obsahy terpenů (α -pinenu) byly naměřeny v lesním vzduchu v letních měsících těsně před východem slunce, případně po západu slunce a mohou být až desetkrát vyšší než koncentrace denní²⁹. V lesním ovzduší lze nalézt i relativně vysoké koncentrace β -pinenu, limonenu, ale i dalších terpenů, jako jsou kamfen, 3-karen, myrcen, tricyklen, 1,8-cineol. Základním faktorem, který ovlivňuje okamžité emise terpenů z rostlin, je teplota. Emise terpenů jsou na teplotě exponenciálně závislé. Množství emisí a rychlost jejich uvolňování

souvisí s biologickými parametry porostu, stupněm jeho poškození, se strukturou integritou olejnatých buněk a živých žláz listů³¹ a lze je v některých případech jednoznačně korelovat s fotosyntetickou asimilací a transpirací oxidu uhlíkatého rostlinami³¹. Emise isoprenu jsou ovlivňovány aktuální intenzitou světla a jeho spektrálním složením³⁴, proto koncentrace isoprenu v lesním vzduchu vykazují výrazné denní fluktuaace, jsou maximální během dne a zanedbatelné v nočních hodinách³⁵. Je překvapivé, že obdobně jako isopren se chovají i monoterpeny s thujanovým skeletem³⁵, sabinén a thujén.

3. Reaktivita isoprenoidů a vliv jejich reakčních produktů na lesní porosty

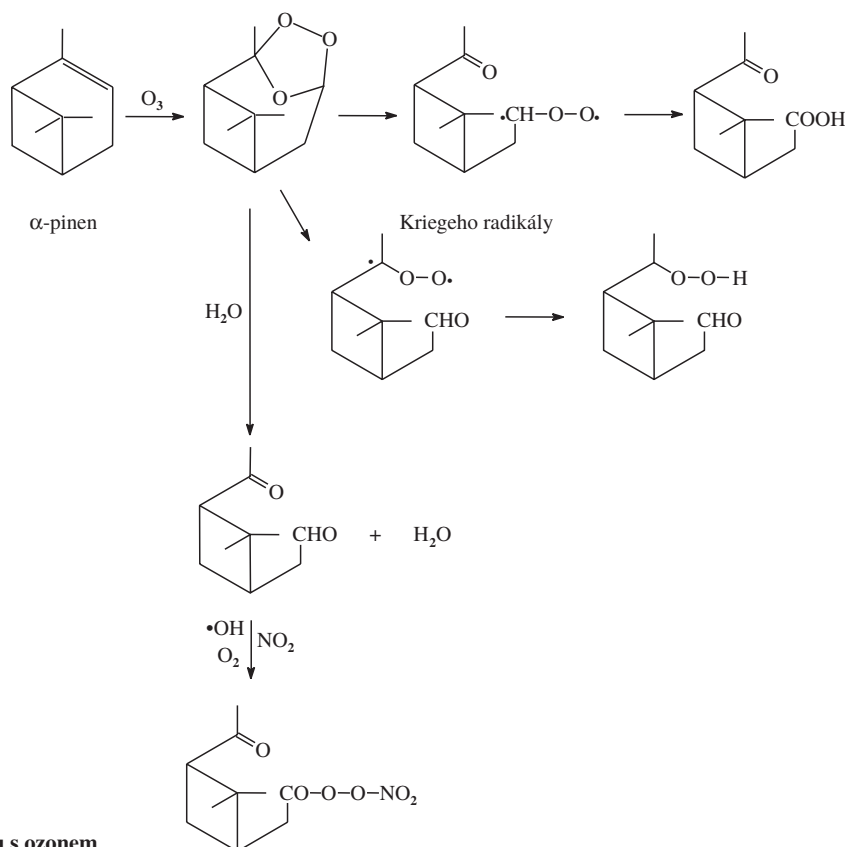
Reaktivita isoprenu a terpenů je založena zejména na elektrofilních a radikálových adičních reakcích dvojné vazby C=C. Některé terpeny jsou natolik citlivé k adičním reakcím, že například α -terpinen, obsahující dvě konjugované dvojné vazby v šestičlenném kruhu, reaguje již při běžných teplotách se vzdušným kyslíkem za vzniku cyklického peroxidu, s triviálním názvem askaridol. Reakce ozonu s isoprenem nebo terpeny vedou ke vzniku hydroxylových radikálů¹⁷ a nestabilních ozonidů^{15,17,35–38}. Ozon se aduje na dvojnou vazbu za vzniku primárního ozonidu, který následně přechází na sekundární ozonid, ve kterém je kyslíkový a peroxidický můstek lokalizován v místě, kde před reakcí byla dvojná vazba mezi uhlíkovými atomy¹². V přítomnosti molekuly vody se sekundární ozonid štěpí, a v závislosti na poloze dvojné vazby vznikají karbonylové nebo aldehydicke sloučeniny a peroxid vodíku^{12,35}. Reakční schéma α -pinenu s ozonem je uvedeno na obrázku 2.

V nočních hodinách reagují těkavé isoprenoidy podle doposud ne zcela objasněného chemického mechanismu, s NO₃ radikály. Z experimentů, které prováděl Corchnoy s Atkinsonem³⁷ vyplývá, že reaktivita α - a β -pinenu, 3-carenu, sabinenu, limonenu, myrcenu, ocimenu, γ -terpinenu a α -felandrenu s OH radikály, ozonem a radikály NO₃ je srovnatelná¹⁶. Výjimku mezi sledovanými terpeny tvoří α -terpinen, u kterého reakce s ozonem dominuje při jeho odstraňování z troposféry.

V souvislosti s isoprenoidy emitovanými lesními porosty byla prokázána tvorba značného množství peroxidu vodíku a organických peroxidů^{35,38–40}. Tyto peroxosloučeniny mají výrazné fytotoxické účinky^{40–42} a způsobují patologické změny ve struktuře listů a jehličí³⁹. Peroxid vodíku vyvolává závažné deformace⁴⁰ mezofylových buněk listů, které se projevují zvětšením plochy mezibuněčného prostoru a následným zvýšením emisí biogenních sloučenin. Podle Peterse⁴³ působení peroxidu vodíku a organických peroxidů může způsobovat vážné škody na lesní vegetaci. Expozice smrkového jehličí kyselé mlže obsahující peroxid vodíku generuje katabolické efekty v primárním jehličí, které se projevují poruchou vodní rovnováhy rostliny^{40,41} a mohou mít v případě nedostatku vláhy fatální následky na lesní porosty⁴⁴.

Kromě toho, že přítomnost peroxidu vodíku v ovzduší je a priori nebezpečná pro rostliny, molekuly peroxidu vodíku reagují⁴⁵ s ionty dvojmocného železa v tzv. Fentonově reakci



Obr. 2. Reakční schéma α -pinenu s ozonem

produkcující s vysokým výtěžkem mimořádně reaktivní hydroxylový radikál. Reakce probíhá již při běžných teplotách a nevyžaduje působení ultrafialového záření. Ionty dvojmocného železa⁴⁵ jsou fotoredukci regenerovány z komplexů trojmocného železa s peroxidem vodíku, a tak může Fentonova reakce představovat nový zdroj generující hydroxylové radikály do biosféry. Pravděpodobnost průběhu Fentonovy reakce lze v přírodě pozitivně korelovat zejména s obsahem isoprenoidů v ovzduší a lze očekávat, že reakce bude probíhat zejména v místech s intenzivním automobilovým provozem, při kterém se uvolňuje do troposféry železo v důsledku otěru točivých součástí motorů.

4. Historické mezníky při stanovení isoprenoidů v ovzduší

Přestože spolehlivé stanovení isoprenu a terpenů v ovzduší má v současném období mimořádný význam a vysokou prioritu, není problematika jejich stanovení beze zbytku dořešena. Chyba stanovení při analýze emisí isoprenu současnými analytickými postupy je významná^{46,47}. Publikované údaje o obsahu ostatních isoprenoidů v ovzduší jsou diskutabilní²⁴, jsou s největší pravděpodobností podhodnoceny.

Podle dostupné literatury, první historicky doložitelné pokusy, systematicky prováděné za účelem stanovení biogenních sloučenin v ovzduší byly učiněny Rasmussen s Wentem v roce 1964 (cit.¹⁹). Autoři sledovali obsahy terpenů v lesním vzduchu. Jejich měření přinášejí první kvantitativní údaje

o aktuální koncentraci některých rostlinných těkavých látek ve vzduchu i zajímavá zjištění, že produkce biogenních látek je spojena s vývojovým stadiem dřevin, zásahy člověka do ekosystému a meteorologickými podmínkami. Analýza se prováděla přímým nástřikem 5 ml okolního vzduchu do plynového chromatografu (GC) Perkin Elmer 800, umístěném v mobilní laboratoři, který obsahoval náplňovou kolonu se stacionární fází Carbowax 20M. Detekce jednotlivých sloučenin byla prováděna plamenově ionizačním detektorem (FID). Tato metodika umožňovala sledovat těkavé rostlinné látky ve volné přírodě na úrovni 10 ppb(v/v). Rasmussen s Wentem prokázali, že v ovzduší je, kromě sloučenin s terpenovým skeletem (α -pinen, β -pinen, 3-karen, limonen, myrcen), také isopren. Tento experiment probíhal současně i v Holandsku¹⁹. Vzduch však nebyl analyzován na místě odběru, ale po transportu v polypropylenových sáčcích do laboratoře, odběrem injekční stříkačkou a dávkováním do plynového chromatografu. Přímý nástřik analyzovaného vzduchu do plynového chromatografu byl použit v následujícím období několikrát. V roce 1972 Rasmussen²¹ analyzoval biogenní sloučeniny po nástřiku 1–5 ml plynného vzorku do plynového chromatografu s plamenově ionizačním detektorem.

Ke snížení detekčního limitu při analýze isoprenoidů v ovzduší jehličnatých lesů vypracovali Whitby s Coffeyem⁴⁸ techniku, která umožňovala dávkovat do plynového chromatografu stovky mililitrů vzduchu. Analytický postup je založen na kryofokusaci analytů z nadávkovaného plynného vzorku v nerezové trubici při teplotě kapalného dusíku. Po kryofokusaci následoval ohřev trubice a separace v náplňové nerezové

koloně se stacionární fází OV-101. Tento postup, ve spojení s plamenově ionizační detekcí, umožnil monitorovat sub-ppb (v/v) množství isoprenoidů v plynném vzorku.

Přestože je metodika přímého nástřiku analyzovaného vzduchu do plynového chromatografu jednoduchá, snaha o zvýšení počtu identifikovaných isoprenoidů v jednom vzorku vedla k téměř výhradnímu používání kapilárních plynově chromatografických kolon, jejichž použití přímý nástřik plynného vzorku významně omezuje. V této souvislosti se při vzorkování ovzduší začala aplikovat technika adsorpce na tuhých sorbentech. Sloučeniny jsou ze sorbentů extrahovány rozpouštědly, případně jsou desorbovány teplem ve speciálních desorpčních aparaturách a analyzovány plynovou chromatografií. Poprvé se sorbenty experimentoval Hedin^{49,50}, který stanovoval těkavé biogenní látky v prostředí bavlníkových plantáží. Analyzovaný vzduch prosával přes Chromosorb 102, adsorbované sloučeniny byly extrahovány *n*-pentanem a extrakt byl analyzován na plynovém chromatografu s hmotovou detekcí (MS). Jako první separoval biogenní sloučeniny na kapilární koloně (stacionární fáze OV-17), která umožnila identifikovat v ovzduší⁵⁰ celkem 73 sloučenin, včetně α -pinenu, limonenu, myrcenu a β -caryophylenu.

Extrakce adsorbovaných sloučenin kapalinou je časově náročná a byla používána při analýze biogenních sloučenin v ovzduší výjimečně, například při vývoji pasivních monitorů monoterpenů v pracovním prostředí při zpracování dřeva⁵¹.

V roce 1977 Holzer⁵² jako první aplikoval při analýze organických sloučenin emitovaných biogenními a antropogenními zdroji adsorpčně-tepelně-desorpční techniku. Při vzorkování ovzduší, které bylo do laboratoře transportováno v 35 litrovém kontejneru, použil Tenax GC, Carbo-pack BHT nebo Amborsorb XE-340. Analyty byly ze sorbentů tepelně desorbovány v upraveném injektoru plynového chromatografu a ve spojení s GC-MS analyzovány. Výhradně pro monitorování obsahu terpenů a isoprenu v ovzduší sloužila adsorpčně-tepelně-desorpční technika v roce 1979 Holdrénovi⁵³, který porovnával dva způsoby vzorkování biogenně emitovaných sloučenin z ovzduší: kryogenický a adsorpční (Tenax GC). Oba poskytovaly srovnatelné výsledky. Vzorkování do kryotrapu i přes adsorpční trubičku se neprovádělo přímo v místě měření, ale z 6-litrového nerezového kanistru, ve kterém byl monitorovaný vzduch shromažďován a transportován do laboratoře k analýze. Látky byly separovány ve skleněné SE-30 kapilární koloně a v ocelové náplňové koloně s Durapakem-Low K. Při detekci a identifikaci byl použit MS detektor. Minimální detegovatelné množství bylo stanoveno na méně než 10 ppt(v/v). Při těchto experimentech byla poprvé testována hypotéza o vlivu ozonu přítomného v analyzovaném vzduchu na výsledky stanovení obsahu biogenních látek olefinického charakteru. Vzájemná souvislost mezi obsahem ozonu v atmosféře a spolehlivostí výsledků nebyla potvrzena, byla však nalezena korelace pro reakci těchto sloučenin s oxidy dusíku.

Přestože se od konce sedmdesátých let při stanovení biogenních sloučenin v ovzduší používaly výhradně kapilární kolony, Yokouchi²⁹ prokázal, že vhodnou metodikou (tandem GC-MS, „single ion mode“ detekce), lze spolehlivě sledovat sub-ppb(v/v) koncentrace monoterpenů v ovzduší i v případě, že je použita náplňová kolona. Vzorkování probíhalo na kolonky s Tenaxem GC, ze kterého byly analyty tepelně desorbovány do skleněné náplňové kolony se směsnou stacionární fází silikon DC 200 s Bentonem 34. V roce 1982 Arnts⁵⁴ se

spolupracovníky analyzovali biogenní sloučeniny po odběru vzduchu do 20 litrového Tedlarového vaku pokrytého černou polyethylenovou fólií, jehož obsah byl k zabránění reakcí s ozonem dopován oxidem dusnatým. Po transportu do laboratoře bylo 500 ml vzduchu z Tedlarového vaku kryogenicky zakoncentrováno v nerezové kapiláře a podrobena plynově chromatografické analýze s plamenově ionizační detekcí. Pro separaci použili WCOT kolonu se stacionární fází SE 30. Tento postup umožnil analyzovat obsah biogenních uhlovdíků v ovzduší na úrovni desítek ppt(v/v). Výsledky nepotvrdily negativní vliv oxidu dusnatého ani vliv časového prodlení mezi vzorkováním a analýzou na spolehlivost stanovení.

Při leteckém i pozemním odběru vzorků vzduchu, které byly prováděny v letech 1977–1980 v rámci sledování vlivu spalování deštného pralesa na životní prostředí v Brazílii, vyhodnocovali Greenberg s Zimmermanem⁵⁵ také emise isoprenu a některých monoterpenů. Při této kampani používali k odběru vzduchu 4 litrový nerezový kanistr, ze kterého byly vzorky vzduchu po transportu k analýze kryofokusovány v nerezové smyčce naplněné skleněnými kuličkami a ponořené v chladicí lázni (kapalný kyslík nebo argon). Kondenzát byl po zahřátí injektován do plynového chromatografu a po separaci v kapilární koloně SE-30 byly jednotlivé píky detegovány plamenově ionizačním nebo MS detektorem. Bylo prokázáno, že vzorkování vzduchu do nerezových kanistrů, s výjimkou uhlovdíků obsahujících ve své molekule kyslík, je stejně spolehlivé jako vzorkování na Tenax, do teflonového nebo Tedlarového vaku⁵⁴.

Při sledování emisí isoprenu a terpenů ze stromů charakterizujících ekosystém severní polokoule popsal Isidorov⁵⁶ adsorpčně-tepelně-desorpční techniku bez kryofokusace. Při vzorkování testoval sorbenty Carbochrom a Tenax GC, separaci analytů prováděl v kapilární kovové koloně s dinonylftalátem a k identifikaci jednotlivých sloučenin chromatografického záznamu použil MS detektor. Isidorov zjistil, že tepelná desorpce z Carbochromu způsobuje přeměny, rozklad, izomeraci případně dehydrataci terpenů. Takto způsobené ztráty mohou být až 60 % (α - a β -pinen). Spolehlivější výsledky stanovení získal Isidorov při vzorkování na Tenax GC.

Od poloviny osmdesátých let se pro vzorkování biogenních sloučenin z ovzduší používal téměř výhradně Tenax (polymer 2,6-difenyl-*p*-fenylenoxidu). Tento sorbent se v některých případech chová nestandardně^{57,58}. V přítomnosti oxidujících látek nebo látek kyselého povahy produkuje analytické artefakty⁵⁹, reaguje s ozonem^{57,58}, jeho vlastnosti se zhoršují se zvyšujícím se počtem tepelně-desorpčních cyklů³⁰, mění se po ozáření slunečním světlem⁴³. Tyto nevýhody lze částečně eliminovat používáním tepelně kondicionovaného Tenaxu³⁰ (Tenax TA) případně jeho chemickou úpravou⁵⁹.

Pro vzorkování biogenních sloučenin z ovzduší není vhodné používat Carbo-pack B (cit.⁵⁷) ani ostatní sorbenty obsahující uhlík, např. Carbotrap (cit.⁶⁰) nebo Carboxen 569, který v souvislosti se vzorkováním biogenních sloučenin v ovzduší studoval Coeur se spolupracovníky⁵⁸. Přesto se uhlíkaté sorbenty při vzorkování isoprenu v ovzduší používaly, např. v rámci projektu³⁰ BEMA (trojsložkové lože Carbotrap C/Carbotrap B/Carbosiv S III) při analýze ovzduší na obsah biogenních sloučenin⁹ (Carbotrap 300). Sorbenty s obsahem uhlíku byly také použity v projektu⁶¹ BEMA, ve kterém účastníci projektu měřili denní a sezonní změny emisí monoterpenů z dubu červina (*Quercus ilex*); při květovém studiu emisí

isoprenoidů z anatomicky i morfologicky srovnatelných pěti druhů dubů (Carbosiv III a Carbotrap, Carbotrap C s Carbotrapem)⁶² i při Larsenově porovnávacím projektu⁶³.

Projekt⁶⁴ ATILA, v jehož průběhu v roce 1984 monitorovány isopren a terpeny v atmosféře lesních porostů ve Francii, vedl k rozšíření adsorpčně-tepelně-desorpční techniky bez kryofokuse^{52,56}. Při těchto experimentech byl použit plynový chromatograf s FID detektorem, přičemž vzorkování atmosféry probíhalo na Tenax GC a Tenax TA (cit.⁶⁵). Po adsorpci byla trubička se sorbentem připojena perforací septa dávkovače plynového chromatografu k chromatografu a adsorbované produkty byly tepelně desorbovány při 300 °C. Separace probíhala v nerezové náplňové koloně se stacionární fází Carbowax 20M.

Téměř do konce osmdesátých let vzorkování a analýza biogenních sloučenin v ovzduší probíhaly odděleně. V roce 1988 Riba⁶⁶ se spolupracovníky popsali automatizované zařízení, umožňující on-line spojení vzorkování a stanovení isoprenoidů v atmosféře. Princip jeho činnosti byl následující: biogenní sloučeniny jsou zachycovány na sorbentu (Tenax TA) naplněném v niklové trubičce, ze kterého byly po tepelné desorpci transportovány pomocí nosného plynu do kapilární kolony plynového chromatografu s plamenově ionizačním detektorem. Po tepelné desorpci analytů byl sorbent ochlazen a připraven k dalšímu vzorkování. Analýza je časově méně náročná a v porovnání s metodami používající kryofokusaci je přístroj při stejné spolehlivosti výsledků autonomnější.

Se zvyšujícím se počtem analýz na obsah biogenních sloučenin v ovzduší bylo zřejmé, že existuje korelace mezi množstvím ozonu ve vzorku analyzovaného vzduchu a analytickými artefakty. Proto v roce 1988 Jüttner⁶⁷ testoval indigokarmín, který byl v roztoku kyseliny chlorovodíkové nanesen na křemenné kuličky naplněné v ochlazené (0 °C) skleněné kapiláře a měl sloužit k odstranění ozonu. Při analýze reálných vzorků nebyl tento způsob odstraňování ozonu použit, protože v důsledku kondenzace vodní páry docházelo k zahlcování reduktoru vodou. Později Jüttner⁶⁸ použil jako reduktor ozonu komerčně vyráběný ozonový katalyzátor. Jüttner doporučuje používat tento způsob odstraňování ozonu při stanovení biogenních sloučenin v ovzduší i přesto, že katalyzátor některé terpeny (kafr, 3-karen, tricyklen, kamfen a 1,8-cineol) částečně zadržuje nebo je rozkládá. V pozdější době se k odstranění ozonu používaly: bezvodý siřičitan sodný⁶⁹, thiosíran sodný⁵⁹, jodid draselný nanesený na vnitřních stěnách anulárního denuderu⁷⁰ nebo na skleněné větvi⁷¹, případně krystalický jodid draselný⁷². K odstranění ozonu sloužila i kovová niklová trubice⁷³, uhlíčitán draselný⁷⁴ a oxid manganičitý nanesený na speciálně konstruované měděné síťce minimalizující ztráty biogenních sloučenin⁷⁵.

V roce 1994 dochází při analýze biogenních sloučenin v ovzduší k renezanzi kryogenního způsobu vzorkování⁴³. Kryotechnika však vyžaduje ochlazovat vzorkovaný vzduch na teploty hluboko pod bod mrazu (cca –190 °C) a je prováděna kondenzací ozonu a oxidu dusičitého společně s analyzovanými látkami, což zvyšuje pravděpodobnost jejich reakcí s biogenními sloučeninami⁷¹. Peters⁴³ prokázal, že spolehlivost výsledků stanovení terpenů závisí na druhu terpenu a ovlivňují ji ozon, oxid dusičitý a relativní vlhkost vzorkovaného vzduchu.

Petersem⁴³ byly v podstatě vyčerpány instrumentální možnosti, které skýtá pro stanovení biogenních sloučenin v ovzduší plynová chromatografie. V souvislosti se stanovením iso-

prenoidů však zbývá dořešit problémy, které jsou spojeny se vzorkováním isoprenoidů z ovzduší, zejména jednoznačně definovat vliv fotooxidantů na spolehlivost stanovení isoprenoidů^{30,33,63,76}.

5. Závěr

Smyslem tohoto článku bylo seznámit čitatele se základními fakty, týkajícími se produkce a analýzy isoprenoidů v ovzduší, a s potenciálem těchto těkavých uhlovodíků ovlivňovat hladinu fotooxidantů v troposféře.

Práce byla realizována v rámci grantu 203/98/0943 GA ČR.

LITERATURA

- Kindl H., Wöber B.: *Biochemie rostlin*. Academia, Praha 1981.
- Wünsch K. H.: *Studienbucherei. Einführung in die Chemie der Naturstoffe*. VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin 1980.
- Timmermans J. (ed.): *Physico-Chemical Constants of Pure Organic Compounds*. Elsevier, New York 1950.
- Silver G. M., Fall R.: *Plant Physiol.* 97, 1588 (1991).
- Kuzma J., Fall R.: *Plant Physiol.* 101, 435 (1993).
- Delwiche C. F., Sharkey T. D.: *Plant Cell Environ* 16, 587 (1993).
- Hocman G.: *Vesmír* 76, 35 (1997).
- Monson R. K., Lerda M. T., Sharkey T. D., Schimel D. S., Fall R.: *Atmos. Environ.* 29, 2989 (1995).
- Lerda M., Litvak M., Palmer P., Monson R.: *Tree Physiol.* 17, 563 (1997).
- Guenther A. B., Monson R. K., Fall R.: *J. Geophys. Res.* 96, 10799 (1991).
- Gildemeister E., Hoffmann F. R.: *Die aeterische öle IV*. Akademie – Verlag, Berlin 1956.
- Červinka O., Dědek V., Ferles M.: *Chemie organických sloučenin*, 2. díl, str. 476. SNTL, Alfa, Praha 1985.
- Hough A. M.: *J. Geophys. Res.* 96, 7325 (1991).
- Trainer M., Williams E. J., Parrish D. D., Buhr M. P., Allwine E. J., Westberg H. H., Fehsenfeld F. C., Liu S.: *Nature* 329, 705 (1987).
- Atkinson R., Hasegawa D., Aschmann S. M.: *Int. J. Chem. Kinet.* 22, 871 (1990).
- Atkinson R., Aschmann S. M., Pitts J. N. Jr.: *Int. J. Chem. Kinet.* 18, 287, (1986).
- Chew A. A., Atkinson R.: *J. Geophys. Res.* 101, 28649 (1996).
- Logan J., Prather M., Wofsky S., McElroy M.: *J. Geophys. Res.* 86, 7210 (1981).
- Rasmussen R. A., Went F.W.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 53, 215 (1965).
- Fehsenfeld F. C., Calvert J., Fall R., Golden P., Guenther A. B., Hewitt C. N., Lamb B., Liu S., Trainer M., Westberg H., Zimmermann P.: *Global Biogeochem. Cycles* 6, 389 (1992).
- Rasmussen R. A.: *J. Air Pollut. Control Assoc.* 22, 537 (1972).
- Zimmerman P. H., Chatfield R. B., Fishman J., Grutzen P. J., Hanst P. L.: *Geophys. Res. Lett.* 5, 679 (1978).
- Rasmussen R. A., Khalil M. A. K.: *J. Geophys. Res.* 93, 1417 (1988).

24. Guenther A., Hewitt N. C., Erickson D., Fall R., Geron C., Graedel T., Harley P., Klinger L., Lerdau M., McKay W. A., Pierce T., Scholes B., Steinbrecher R., Tallamraju R., Taylor J., Zimmerman P.: *J. Geophys. Res.* **100**, 8873 (1995).
25. Went F. W.: *Nature* **187**, 641 (1960).
26. Atkinson R.: *J. Phys. Chem. Ref. Data, Monograph* **2**, 1 (1994).
27. Yu J., Cocker III D. R., Griffin R. J., Flagan R. C., Seinfeld J. H.: *J. Atmos. Chem.* **34**, 207 (1999).
28. Hanover J. W.: *J. Michigan State Univ.*, No. **5221**, 625 (1972).
29. Yokouchi Y., Fujii T., Ambe Y., Fuwa K.: *J. Chromatogr.* **209**, 293 (1981).
30. Kesselmeier J., Schäfer L., Ciccioli P., Brancaleoni E., Cecinato A., Frattoni M., Foster P., Jacob V., Denis J., Fugit J. L., Dutaur L., Torres L.: *Atmos. Environ.* **30**, 1841 (1996).
31. Fuentes J. D., Wang D., Neumann H. H., Gillespie T. J., Den Hartog G., Dann T. F.: *J. Atmos. Chem.* **25**, 67 (1996).
32. Tingey D. T., Turner D. P., Weber J. A.: v knize: *Trace Gas Emissions from Plants* (Sharkey Th. D., Holland E. A., Mooney H. A., ed.), str. 93. Academic Press, San Diego 1991.
33. Steinbrecher R., Eichstädter G., Schürmann W., Torres L., Clement B., Simon V., Kotzias D., Daiber R., Van Eijk J.: *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **54**, 283 (1994).
34. Sanadze G. A., v knize: *Trace Gas Emissions from Plants* (Sharkey T. D., Holland E. A., Mooney H. A., ed.), str. 135. Academic Press, San Diego 1991.
35. Hoffmann T., Jacob P., Linscheid M., Klockow D.: *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **52**, 29 (1993).
36. Shu Y., Atkinson R.: *Int. J. Chem. Kinet.* **26**, 1193 (1994).
37. Corchnoy S. B., Atkinson R.: *Environ. Sci. Technol.* **24**, 1497 (1990).
38. Becker K. H., Brockmann K. J., Bechara J.: *Nature* **346**, 256 (1990).
39. Gäb S., Turner W. V., Kurth H. H., v knize: *Atmospheric Oxidation Processes* (Becker K. H. ed.), str. 41. Commission of the European Communities, Air Pollution Research Report 33, 1990.
40. Masuch G., Kicinski H. G., Dulme W., Kettrup A.: *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **37**, 161 (1989).
41. Macuch A., Kettrup R. K., Mallant A. M., Slanina J.: *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **27**, 183 (1986).
42. Möller D.: *Atmos. Environ.* **23**, 1625 (1989).
43. Peters R. J. B., Johannes A. D., Duivenbode V., Duyzer J. H., Verhagen H. L. M.: *Atmos. Environ.* **28**, 2413 (1994).
44. Christmann A., Frenzel B., Schiller P.: *J. Plant Physiol.* **147**, 419 (1995).
45. Prousek J.: *Chem. Listy* **89**, 11 (1995).
46. Altshuller A. P.: *Atmos. Environ.* **17**, 2131 (1983).
47. Simpson D.: *J. Geophys. Res.* **100**, 22891 (1995).
48. Whitby R. A., Coffey P. E.: *J. Geophys. Res.* **82**, 5928 (1977).
49. Hedin P. A., Thompson A. C., Gueldner R. C.: *Phytochemistry* **14**, 2088 (1975).
50. Hedin P. A.: *Environ. Entomol.* **5**, 1234 (1976).
51. Eriksson K., Levin J.-O., Rhén M., Lindal, R.: *Analyst* **119**, 85 (1994).
52. Holzer G., Shenfield H., Zlatkis A., Bertsch W., Juarez P., Mayfield H., Liebich H. M.: *J. Chromatogr.* **142**, 755 (1977).
53. Holdren M. W., Westberg H. H., Zimmermann P. R.: *J. Geophys. Res.* **84**, 5083 (1979).
54. Arnsts R. R., Petersen W. B., Seila R. L., Gray B. W. Jr.: *Atmos. Environ.* **16**, 2127 (1982).
55. Greenberg J. P., Zimmerman P. R.: *J. Geophys. Res.* **89**, 4767 (1984).
56. Isidorov V. A., Zenkevich I. G., Ioffe B. V.: *Atmos. Environ.* **19**, 1 (1985).
57. Ciccioli P., Brancaleoni E., Cecinato A., Di Palo C., Brachetti A., Liberti A.: *J. Chromatogr.* **351**, 433 (1986).
58. Coeur C., Jacob V., Denis I., Foster P.: *J. Chromatogr. A*, **786**, 185 (1997).
59. Strömvall A. M., Petersson G.: *J. Chromatogr.* **589**, 385 (1992).
60. Rothweiler H., Wagner P. A., Schlatter C.: *Atmos. Environ.* **25**, 231 (1991).
61. Bertin N., Staudt M., Hansen U., Seufert G., Ciccioli P., Foster P., Fugit J. L., Torres L.: *Atmos. Environ.* **31**, 135 (1997).
62. Steinbrecher R., Hauff K., Rabong R., Steinbrecher J.: *Atmos. Environ.* **31**, 79 (1997).
63. Larsen B., Bomboi-Mingarro T., Brancaleoni E., Calogirou A., Cecinato A., Coeur C., Chatzianestis I., Duane M., Frattoni M., Fugit J.-L., Hansen U., Jacobs V., Minnikos N., Hoffmann T., Owen S., Perez-Pastor R., Reichmann A., Seufert G., Staudt M., Steinbrecher R.: *Atmos. Environ.* **31**, 35 (1997).
64. Riba M. L., Tathy J. P., Mathieu J., Torres L.: *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **20**, 255 (1985).
65. Riba M. L., Randrianalimanana E., Mathieu J., Torres L., Namiesnik J.: *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **19**, 133 (1985).
66. Riba M. L., Tsiropoulos N., Clement B., Golfier A., Torres L.: *J. Chromatogr.* **456**, 165 (1988).
67. Jüttner F.: *Chemosphere* **17**, 309 (1988).
68. Jüttner F.: *J. Chromatogr.* **442**, 157 (1988).
69. Montzka S. A., Trainer M., Goldan P. D., Kuster W. C., Fehsenfeld F. C.: *J. Geophys. Res.* **98**, 1101 (1993).
70. Williams E. L. II., Grosjean D.: *Environ. Sci. Technol.* **24**, 811 (1990).
71. Helming D., Greenberg J.: *J. Chromatogr.* **677**, 123 (1994).
72. Helming D., Greenberg J.: *J. High Resolut. Chromatogr.* **18**, 15 (1995).
73. Riemer D. D., Milne P. J., Farmer C. T., Zika R. G.: *Chemosphere* **28**, 837 (1994).
74. Martin R. S., Westberg H., Allwine E., Ashman L., Farmer J.C., Lamb B.: *J. Atmos. Chem.* **13**, 1 (1991).
75. Hoffmann T.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* **351**, 41 (1994).
76. Fuentes J. D., Wang D., Den Hartog G., Neumann H. H., Dann T. F., Puckett K. J.: *Atmos. Environ.* **29**, 3003 (1995).

Z. Večeřa (*Institute of Analytical Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Brno*): **Isoprenoids in the Atmosphere**

The article acquaints with the basic facts on the production and analysis of isoprenoids in the atmosphere, and with the potential of the volatile hydrocarbons to influence photo-oxidant levels in the troposphere.

STANOVENÍ SYNTETICKÝCH BARVIV V POTRAVINÁCH SEPARAČNÍMI METODAMI

ANDREA ŠLAMPOVÁ, DANA SMĚLÁ,
ALENA VONDRÁČKOVÁ, IRENA JANČÁŘOVÁ
a VLASTIMIL KUBÁŇ

Ústav chemie a biochemie, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, e-mail: kuban@mendelu.cz

Došlo dne 26.I.2000

Klíčová slova: potravinářská barviva, kapalinová chromatografie, kapilární elektroforéza, HPLC, CE

Obsah

1. Úvod
2. Barviva
 - 2.1. Syntetická barviva
3. Stanovení syntetických barviv v potravinách
 - 3.1. Metody důkazu a izolace syntetických barviv
 - 3.2. Stanovení syntetických barviv metodou HPLC
 - 3.3. Stanovení syntetických barviv metodou CE
4. Závěr

1. Úvod

Přibarvování poživatin má své opodstatnění nejen z hlediska estetického, ale i fyziologického, avšak důvodů pro přidávání barviv je více (znovu získat barevný vzhled potraviny, který se změnil během výrobního procesu, zajistit uniformitu výrobku ve všech výrobních šaržích, zlepšit vzhled potravinového výrobku aj.). Pro přibarvování se používají přírodní i syntetická barviva.

Povolení použití aditiva autorizované státem (a tedy i syntetických barviv) musí zajistit spotřebiteli zdravotní nezávadnost. To lze uskutečnit na základě znalostí o toxických vlastnostech každé aditivní látky (ze zdrojů Světové zdravotnické organizace WHO a Potravinářské a zemědělské organizace FAO jsou relativně dobře známy) a znalostí o skutečném konzumu každého typu potraviny v konkrétní komunitě. Tyto údaje hodljají zjišťovat země EU povinným monitorováním v každém členském státě. Druhy a počty povolených barviv se v jednotlivých zemích liší. Ve většině zemí je povoleno okolo deseti druhů syntetických barviv jakožto potravinářských aditiv. Nejvyšší povolené množství (NPM) těchto barviv v potravinách je stanoveno tak, aby ochraňovalo zájmy spotřebitele.

Daleko závažnější důsledky pro zdraví člověka mají nesprávná a nedostatečná výživa, přírodní toxické látky, mikrobiální kontaminace a kontaminanty. Dlouhodobý vliv některých aditiv na zdraví člověka není ještě zcela prozkoumán

a dodatečné výzkumy pak mnohdy odhalují chronické poškození zdraví. Skryté nebezpečí používání potravinářských aditiv (a tedy i syntetických barviv) by se tedy nemělo podceňovat. Výrobci musí dodržovat limity – NPM, jak jim ukládá zákon č. 110/1997 Sb. – o potravinách a tabákových výrobcích a prováděcí vyhlášky. Stálá kontrola orgány státního dozoru je zde zcela opodstatněná.

2. Barviva

Barviva jsou organické sloučeniny s takovou molekulární strukturou, která umožňuje absorpci světla ve viditelné části spektra a zároveň umožňuje fyzikální nebo chemickou vazbu s vybarvovaným substrátem. Barevnost je podmíněna rozsáhlým konjugovaným systémem dvojných vazeb v molekule barviva¹. Nositel barevnosti jsou skupiny obsahující dvojnou vazbu, tzv. chromofory (skupina azo-, nitro-, nitroso-, karbonylová). Vlastní sloučenina nesoucí chromofory se nazývá chromogen. Intenzitu zbarvení a afinitu k substrátu zvyšují auxochromy (skupina hydroxy-, amino-, alkylamino-). Nejdůležitějšími skupinami rostlinných barviv (pigmentů) jsou karotenoidy, flavonoidy, anthrachinony, betalainy a pyrrolová barviva²⁻⁹. Rostlinné pigmenty se používají jako zdravotně nezávadná barviva v potravinářském průmyslu, farmacii, kosmetice a jejich využití se neustále rozšiřuje.

2.1. Syntetická barviva

Syntetických barviv je vyráběn velký počet. Jde o průmyslově vyráběné barevné sloučeniny, které se syntetizují z velkého množství polotovarů, založených na produktech zpracování ropy a dehtu, proto se často nazývají dehtová barviva. U řady syntetických barviv, zejména u barviv rozpustných v tucích, byly zjištěny kancerogenní účinky (např. u máslové žlutí, která byla používána k barvení ztužených tuků – margarínů). U mnohých syntetických barviv je také prokázáno hemolytické působení, inhibice některých enzymů a negativní působení na žaludeční sekreci. Mohou škodit také obsahem reziduí z výroby (různých uhlovdíků, těžkých kovů aj.). Některá syntetická barviva (tartrazin, amarant, erythrosin) jsou podstatně méně akceptovatelná než ostatní. Je třeba na to pamatovat zejména při náchylnosti k alergiím.

Podle chemické povahy lze řadit syntetická potravinářská barviva do několika skupin. Jsou to azobarviva mono- i polyfunkční, di- a trifenylmethanová barviva, nitrobarviva, pyrazonová, xanthenová, antrachinonová, chinolinová a indigoidní barviva. Většina ve vodě rozpustných barviv je kyselá povahy. Obsahují ve své molekule jednu nebo několik sulfoskupin a jsou používána ve formě sodných solí, které jsou velmi dobře rozpustné ve vodě. Z hlediska legislativy jsou velmi důležité i důkazy přibarvování potravin syntetickými barvivami, především se zřetelem k dodržování příslušných zdravotnických norem¹⁰.

Povolení k používání veškerých aditiv je podmíněno celou řadou zdravotních zkoušek. Patří mezi ně například zjištění

akutní toxicity (LD-50) u pokusných zvířat, tj. dávka látky, která usmrtí 50 % jedinců, subchronické a chronické toxicity, kancerogenity, mutagenity, teratogenity, kumulace v organismu, bioenergetické účinky, vliv na imunitu a některé další účinky. Bývá určen povolený denní příjem (ADI – acceptable daily intake), který vychází z pokusů na zvířatech. Podle doporučení WHO se zjistí koncentrace látky, která ještě nemá pro pokusné zvíře žádné toxické působení, tato hodnota se sníží 100× a vyjadřuje ADI pro člověka (v mg.kg⁻¹ tělesné hmotnosti)¹¹.

Potravinářská barviva musí splňovat i další požadavky. Nesmí nepříznivě ovlivnit ostatní organoleptické vlastnosti přibarvené potraviny, zejména pak chuť a vůni. Musí mít vysokou barevnou mohutnost a být dobře rozpustná ve vodě. Nesmí docházet k interakcím s jinými složkami potravin. Barvivo musí být stálé vůči změnám pH, oxidačně redukcí vlivům, vůči světlu, teplu a u pevných potravin i vůči vlhkosti. Musí být ekonomicky dostupné a přijatelné a musí splňovat požadavky na obsah hlavní složky a přítomnost vedlejších složek¹². Ve smyslu zákona č. 110/1997 Sb. a vyhlášky MZ ČR č. 298/1997 Sb. jsou za barviva považovány látky získané z potravin a dalších složek přírodního původu extrakcí fyzikální a chemické povahy, která má za následek selektivní oddělení barevné látky.

Potraviny, chuťové a aromatické látky a jejich složky, které se přidávají během výroby do potravin pro své aromatické, chuťové nebo výživové vlastnosti a přitom mají sekundární barvicí účinek, jako např. mletá paprika, šafrán a kurkuma a dále barviva, určená k barvení nejedlých vnějších částí potravin, jakými jsou např. povrchové povlaky sýrů a salámová střeva, se za barviva ve smyslu této vyhlášky nepovažují. Seznam barviv povolených k barvení potravin je uveden v tabulce I. K přibarvování se obvykle nepoužívají všechna povolená barviva společně, ale maximálně kombinace dvou až tří barviv. Mezi nejčastěji používaná barviva na přibarvování potravin patří: chinolinová žluť, žluť SY, tartrazin, ponceau 4R, indigotin, azorubin, brilantní modř, zeleň S, brilantní čerň a amarant.

Nejvyšší povolená množství¹² jsou vztažena na potravinu připravenou k používání podle návodu výrobce (pokud příprava před spotřebou vyžaduje). Při použití v kombinaci se hodnota týká celkového množství použitých barviv. U skupiny vyjmenovaných potravin (např. odrůdová vína) nesmí být použita žádná syntetická barviva.

3. Stanovení syntetických barviv v potravinách

Zájem hygieniků o potravinářská syntetická barviva vzrostl, když u řady běžně používaných syntetických barviv byly vystopovány pravděpodobné kancerogenní účinky. Výsledkem je i zákaz používání některých lipofilních syntetických barviv pro potravinářské účely ve většině států. To se týká rovněž úplného zákazu používání barviva ponceau 4R (E 124) na celém území USA a Velké Británie. Podobný osud potkal v USA i amarant (E 123) a erythrosin (E 127). V České republice upravuje barvení potravin zákon č. 110/1997 Sb. o potravinách a tabákových výrobcích, který používání barviva ponceau 4R (E 124), amarant (E 123) i erythrosin (E 127) povoluje i přes dosud nepotvrzené podezření na pravděpodobné kancerogenní účinky.

Tabulka I

Barviva, která smějí být používána k výrobě potravin jednotlivě či v kombinaci až do nejvyššího povoleného množství (NPM)

Číslo	Barvivo
E 100	kurkumin
E 104	chinolinová žluť
E 120	košenila, kyselina karmínová, karmín
E 124	ponceau 4R
E 131	patentní modř V
E 133	brilantní modř
E 151	čerň BN
E 160 d	lykopen
E 160 f	ethylester kyseliny beta- <i>apo</i> -8'-karotenové
E 102	tartrazin
E 110	žluť SY
E 122	Azorubin
E 129	červeň Allura AC
E 132	indigotin
E 142	zeleň S
E 155	hněd HT
E 160 e	beta- <i>apo</i> -8'-karotenol
E 161 b	lutein

Z uvedeného vyplývá nutnost neustálého zkoumání rizik používaných syntetických barviv na lidské zdraví, s čímž souvisí i rozvoj metod zabývajících se měřením hodnot koncentrací syntetických barviv v potravinářských výrobcích.

3.1. Metody důkazu a izolace syntetických barviv

Nejznámější postupy důkazu přítomnosti syntetických barviv v různých druzích potravinářských výrobků, jsou vybarvovací zkoušky na odtučněném vlněném vlákne a nebo se používají extrakční způsoby pomocí organických rozpouštědel. Kyselá barviva se dají izolovat extrakcí *n*-amylalkoholem a následnou vícenásobnou extrakcí do vody²³. U tuhých vzorků se používá k extrakci amoniakální roztok methanolu a ethanolu²⁴. Používaným způsobem izolace je také adsorpce na polyamid^{23,25}, kaolin, přírodní křemičitan hlinitý, aktivní uhlí²⁶. U kapalných vzorků se dokazuje přítomnost barviv přímo, z tuhých vzorků je po homogenizaci třeba barviva extrahovat vodou. Pokud vzorek obsahuje víc než 5 % tuku, je třeba ho nejprve extrahovat petroletherem.

Z bílého vlněného vlákna se nejprve odstraní tukové složky a nečistoty (extrahuje se petroletherem, po usušení se zahřívá v 5 % (m/m) NH₃ a nakonec se vypere vodou). Takto připravené vlákno se namočí do roztoku vzorku a při 70–100 °C se po dobu 10–30 minut nechá adsorbovat syntetické barvivo. Zároveň se však adsorbují také antokyaniny, pokud jsou přítomny. Ty se ale odstraní následným vypráním ve studené vodě. Pokud zůstane vlákno po vyprání zabarvené, je to důkaz přítomnosti syntetických barviv ve vzorku.

U metody vybarvování polyamidového prášku se při izolaci umělých barviv ze vzorku postupuje stejně jako v prvním

případě. Vodný roztok barviv se smísí s polyamidem, protřepe a přefiltruje. Polyamid zachycený na filtru se pak promývá 2 % (m/m) roztokem kyseliny octové v methanolu. Tím se odstraní přírodní barviva. Jestliže i po tomto promytí zůstane polyamid zabarvený, byla prokázána přítomnost syntetických barviv. Ve srovnání s vybarvováním vlněných vláken je tato metoda citlivější, méně časově náročná a poskytuje větší kvantitativnost adsorpce.

3.2. Stanovení syntetických barviv metodou HPLC

Při identifikaci jednotlivých barviv se využívají spektrální metody v UV a viditelné oblasti, charakteristika absorpčních spekter, fluorescence. Dříve se ke stanovení potravinářských barviv využívalo především chromatografických^{13–26}, spektrofotometrických^{27,28} a elektrochemických metod²⁹. V současnosti největší počet metod spadá do oblasti chromatografických a elektromigračních metod^{13–26,30–58}. Často se využívá i chemometrie⁵⁹.

V minulosti se jakožto metody analýzy potravinářských barviv používaly především chromatografické metody (papírová, tenkovrstvá a kolonová). V současnosti se nejvíce využívá vysoce účinná kapalinová chromatografie, kapilární zónová elektroforéza, micelární elektrokinetická chromatografie, iontově párová chromatografie a iontově výměnná chromatografie.

Syntetická barviva (tartrazin, chinolinová žluť, azorubin, košenila, erythrosin, patentní modř V, indigotin, zeleň S, brilantní černá BN) byla separována⁴² metodou HPLC na koloně LICHROSORB RP-18 gradientovou elucí mobilní fázi CH₃OH a fosfátový pufr (pH 7,8). Barviva byla v eluátu detegována spektrofotometricky s detekčním limitem v rozmezí 0,5–2,0 µg.ml⁻¹ (tab. II).

Pro rozdělení a stanovení syntetických barviv (amarant, chinolinová žluť, žluť SY, zeleň S) ve vzorcích nealkoholických nápojů na koloně⁴³ SPHERISORB byla použita směs acetonitril:methanol:tlumivý roztok 17,5:12,5:70 (v/v). Doba analýzy byla pouze 4 minuty. Detekce byla provedena spektrofotometricky.

K separaci 15 barviv⁴⁴ na koloně ULTRASPHERE ODS byla použita gradientová eluce mobilní fázi tvořenou směsí roztoku síranu sodného o $c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ (pH 2,5 upraveno přidávkem H₃PO₄) a roztoku Na₂SO₄ ($c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$):H₂O:CH₃OH v poměru 1,5:7:22 (v/v). Žlutá barviva byla detegována spektrofotometricky při 430 nm, červená při 520 nm a zelená a modrá při 640 nm.

Vhodnost metody HPLC pro stanovení syntetických barviv v potravinách⁴⁵ byla ověřena mezilaboratorním testem (12 veřejných a státních laboratoří (GB) a jedné dánské státní laboratoře) na 6 vzorcích limonád a 2 vzorcích piškotových buchet. Z nealkoholických nápojů byla barviva nejdříve zachycena na kolonu s polyamidem. K separaci bylo použito chromatografického systému s reverzní fází na koloně SPHERISORB C8 s mobilní fází methanol:KH₂PO₄ (5 mmol.l⁻¹) s poměrem obou složek 50:50 (v/v) až 60:40 (v/v). Vlnová délka pro detekci (v rozmezí 430–640 nm) byla volena podle druhu barviva.

Pro separaci a stanovení 11 syntetických barviv v 21 vzorcích nealkoholických nápojů⁴⁶ metodou iontově párové HPLC izokratickou elucí na chromatografické koloně DEVE-

Tabulka II

Přehled podmínek chromatografické separace (HPLC) syntetických barviv

Sorbent	Eluce	LOD [µg.ml ⁻¹]	Lit.
LICHROSORB RP-18 ^a	gradientová	0,5–2,0	42
SPHERISORB ^b	gradientová		43
ULTRASPHERE ODS ^c	gradientová		44
SPHERISORB C8 ^d			45
DEVELOFIL ODS 5 ^e	izokratická	0,05–0,2	46
COSMOSIL 5 C18-R ^f	gradientová	0,1–0,5	47
DIONEX ION PAC AS11 ^g			48
SEPHARON SGX C18 ^h	gradientová i izokratická		49
HYPERSIL BDS ⁱ	gradientová	<ng	50
SEPHARON SGX C18 ^j	izokratická	0,2–0,4	57,58

^a CH₃OH + fosfátový pufr (pH 7,8), ^b acetonitril:methanol:tlumivý roztok 17,5:12,5:70 (v/v), ^c Na₂SO₄ ($c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$, pH = 2,5 upraveno přidávkem H₃PO₄) + Na₂SO₄ ($c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$):H₂O:CH₃OH v poměru 1,5:7:22 (v/v), ^d methanol:KH₂PO₄ (5 mmol.l⁻¹) 50:50 (v/v) až 60:40 (v/v), ^e acetonitril:50 mmol.l⁻¹ NaH₂PO₄, obsahující 2 mmol.l⁻¹ cetyltrimethylamoniumchloridu a 3 mmol.l⁻¹ tetra-*n*-hexylamoniumbromidu (pH 3,0) = 3:2 (v/v), ^f acetonitril + 0,015 mol.l⁻¹ tetrabutylamonium-hydroxid, ^g HCl:acetonitril, ^h methanolic a vodný roztok TBAB o $c = 5 \text{ mmol.l}^{-1}$, ⁱ NaH₂PO₄ ($c = 10 \text{ mmol.l}^{-1}$) a tetrabutylamonium-dihydrogenfosfát ($c = 1 \text{ mmol.l}^{-1}$) o pH 4,2 a acetonitrilu, ^j 50 mmol.l⁻¹ fosfátový pufr a 5 mmol.l⁻¹ tetrabutylamonium-hydroxid (TBAOH) o pH 4,2 v 30 % resp. 38 % (v/v) acetonitrilu

LOSIL ODS 5 byla použita směs acetonitril:50 mmol.l⁻¹ NaH₂PO₄, obsahující 2 mmol.l⁻¹ cetyltrimethylamoniumchlorid a 3 mmol.l⁻¹ tetra-*n*-hexylamoniumbromid (pH 3,0) = 3:2 (v/v). Před nadávkováním na HPLC kolonu byla barviva z nealkoholických nápojů nejdříve zachycena na kolonu s polyamidem. Barviva byla detegována spektrofotometricky s detekčními limity v rozmezí 0,05–0,2 µg.ml⁻¹.

Ke stanovení syntetických barviv v nealkoholických nápojích a bonbonech⁴⁷ metodou iontově párové HPLC byl vzorek rozpuštěn ve vodě a přidávkem kyseliny octové upraven na pH 3–4. Přečištění roztoku bylo provedeno přes Sep-Pak NH₂ kolonu. Barviva byla eluována 50 % (v/v) roztokem ethanolu obsahujícím 1 % NH₃. Po neutralizaci eluátu kyselinou octovou byla vlastní separace barviv provedena na koloně COSMOSIL 5 C18 – AR gradientovou elucí směsí acetonitril a 0,015 mol.l⁻¹ roztok tetrabutylamonium-hydroxid. K detekci barviv byl použit UV/VIS spektrofotometr, přičemž červená a modrá barviva byla detegována při vlnové délce 550 nm, žlutá barviva při 450 nm. Detekční limity barviv byly 0,1–0,5 µg.g⁻¹ resp. µg.ml⁻¹ vzorku.

Separace a stanovení 8 syntetických barviv (amarant, brilantní modř, new red, indigotin, ponceau 4R žluť SY, tartrazin, červeně allura) v nealkoholických a instantních nápojích metodou HPIC (high – performance ion chromatography) byla provedena s využitím gradientové eluce na aniontové – vý-

měnné koloně DIONEX ION PAC AS11 s velmi nízkou hydrofobicitou⁴⁸. Mobilní fázi tvořila směs HCl:acetonitril. Barviva byla detegována spektrofotometriky. Pro amarant, ponceau 4R a new red byla jako kompromis zvolena detekční vlnová délka 525 nm, pro žlutý SY a červeně allura 480 nm, pro tartrazin 430 nm a pro brilantní modř a indigotin 625 nm. Metoda nevyžadovala časově náročné přečištění, které se používá u běžné kapalinové chromatografie.

Zkušební metoda⁴⁹ ČZPI pro stanovení syntetických potravinářských barviv v nápojích, sirupech, cukrovinkách apod., používá metodou HPLC na koloně Sepharon SGX C18 (3×150 mm) s velikostí částic 7 μm a gradientové eluce, popřípadě izokratické eluce (pro barviva s vyššími retenčními časy). Mobilní fázi je směs methanolického a vodného roztoku TBAB o $c = 5 \text{ mmol.l}^{-1}$. Žlutá a červená barviva lze spektrofotometriky detegovat při 480 nm (chinolinová žluť při 420 nm), modrá při 590 nm. Syntetická barviva jsou nejdříve vyextrahována z poživatiny ve vodném prostředí. Po jejich adsorpci na polymerní sorbent jsou odstraněny látky, které mohou rušit stanovení (sacharidy, přírodní barviva aj.), syntetická barviva jsou eluována směsí $\text{CH}_3\text{OH}:\text{NH}_3 = 90:10$ (v/v) a eluát je zahuštěn na vakuové odparce.

Pro stanovení syntetických barviv (tartrazinu, amarantu, ponceau 4R, žlutí SY, erytrosinu a šarlatové červení) v potravinách⁵⁰ gradientovou eluci na koloně HYPERSIL BDS (125×3 mm, 3 μm) byly zhodnoceny 4 různé mobilní fáze a jako nejlepší byla doporučena směs roztoku NaH_2PO_4 ($c = 10 \text{ mmol.l}^{-1}$) a tetrabutylamonium-dihydrogenfosfát ($c = 1 \text{ mmol.l}^{-1}$) o pH 4,2 a acetonitrilu (dále ACN). Při použití dvou posledně uvedených fází (NaH_2PO_4 , $c = 10 \text{ mmol.l}^{-1}$) + tetrabutylamonium-hydrogensulfát ($c = 1 \text{ mmol.l}^{-1}$ o pH 4,8) a ACN; octan amonný ($c = 10 \text{ mmol.l}^{-1}$ o pH 4,9) a ACN a NaH_2PO_4 ($c = 10 \text{ mmol.l}^{-1}$ o pH 4,3 a ACN) docházelo k mírné deformaci píků barviv obsahujících sulfoskupiny (tartrazin, amarant, azorubin, žlutý SY).

3.3. Stanovení syntetických barviv metodou CE

Ke stanovení syntetických přídatných barviv v potravinách se stále častěji využívá elektromigračních metod, a to především kapilární elektroforézy. Jedná se o kyselá (azo- a triarylmethanová) aniontová barviva obsahující karboxy-, sulfo- nebo hydroxyskupiny, které v zásaditém prostředí tvoří negativně nabitě barevné ionty. Kapilární elektroforéza je tedy ideální metodou ke stanovení těchto látek, neboť je schopna separovat všechna barviva s rozdílnými funkčními skupinami během jedné analýzy a v krátkém čase. Další nezanedbatelnou výhodou je velmi malá spotřeba vzorku (tab. III).

Ke stanovení syntetických barviv v potravinových vzorcích⁵¹ metodou kapilární izotachoforézy byl použit izotachoforetický analyzátor ZKI 01 s vodivostním detektorem. Jako vedoucí elektrolyt byl zvolen 10 mmol.l^{-1} roztok HCl s β-alaninem o výsledném pH 3,5 a přídatkem 0,1 % roztoku methylhydroxyethylceluosu. Koncový elektrolyt byl tvořen 5 mmol.l^{-1} kyselinou octovou. Vzorky byly analyzovány při proudu 300 μA v předseparační koloně a 50 μA v analytické koloně. Doba analýzy byla 30 minut. V některých případech, kdy vzorek obsahoval kombinaci syntetických barviv s indigotinem byl rozdíl pohyblivosti jednotlivých barviv velmi malý a detektor je nezaznamenal. V takovém případě byl

použit selektivní fotometrický detektor ve viditelné oblasti spektra.

K identifikaci 11 potravinářských barviv metodou⁵² CZE pomocí izotachoforetického analyzátoru EA 100 s úpravou pro metodu CZE v hydrodynamicky uzavřeném systému byl aplikován elektrolytový systém (ES) nosný anion: 30 mmol.l^{-1} TES (kyselina *N*-tris-(hydroxymethyl)-methyl-2-aminoethan sulfonová), protiion: 8 mmol.l^{-1} imidazol, 2 % PEG (polyethylenglykol) a 6 mmol.l^{-1} β-cyklodextrin. Výsledné pH ES bylo 6,84. Doba analýzy byla 600 s při hnacím proudu 140 μA. Díky jednoduchému uspořádání přístroje, krátké době analýzy a malé spotřebě nosného elektrolytu a vzorku byla tato metoda zhodnocena jako nejméně finančně náročná k identifikaci syntetických barviv v poživatinách.

V případě použití metody kapilární zónové elektroforézy⁵³, kdy byl jako základní elektrolyt použit 20 mmol.l^{-1} borátový pufr adjustovaný na pH 7–9 bylo možné stanovit šest základních syntetických potravinářských barviv s detekčním limitem 3 μg.ml^{-1} pro jednotlivá barviva. Reprodukovatelnost migračních časů %RSD byla pod 1 % a pro plochy píků pod 5 %. K separaci bylo použito elektrokinetické dávkování vzorku při 4 kV po dobu 14 s, analytické napětí 25 kV, teplota 18 °C a vlnová délka pro detekci 220 nm. Měření bylo provedeno na CE systému s CV⁴ CE absorpčním detektorem s křemennou kapilárou 60 cm dlouhou s 75 μm i.d.

Další tým autorů⁵⁴ stanovoval potravinářská barviva na elektroforetickém systému HCZE-30 PNO.25-LSD s on-column detekcí (875-CE UV-VIS detektor). K separaci jednotlivých barviv byl použit jako elektroforetický pufr 20 mmol.l^{-1} tetraborátový pufr pH 7,5 a kapilára o celkové délce 77 cm a 50 μm i.d., analytické napětí 25 kV a hydrostatické dávkování vzorku.

Stanovení potravinářských aditiv na CAPI-3000 systému s křemennou kapilárou 75 μm i.d. o celkové délce 50 cm MEKC popisuje práce⁵⁵. K detekci byl použit diode-array detektor s rozsahem absorpčních 190–600 nm. Elektroforetický pufr byl tvořen směsí 25 mmol.l^{-1} fosfátového a 25 mmol.l^{-1} borátového pufru 1:1 o pH 8,0 obsahující 10 mmol.l^{-1} SDS. Separace probíhala při 25 °C a 10 kV. Při použití hydrostatického dávkování bylo během 20 minut separováno sedm syntetických barviv s RSD migračních časů 0,7 % a ploch píků 5,1 % a detekčním limitem ca. 1 μg.ml^{-1} .

HP^{3D}CE systém s vestavěným diode-array detektorem a HP^{3D}CE ChemStation softwarem⁵⁶ byl použit pro separaci v křemenné kapiláře 50 μm i.d. a 64,5 cm celkové délky při 30 °C a 30 kV. Z celé řady použitých elektroforetických pufrů (borát, CAPS, fosfát) byl jako optimální vybrán 10 mmol.l^{-1} fosfátový pufr s 5 mmol.l^{-1} hydrogenuhličitanovým pufrem o celkovém pH 10,5. Vzorek byl vpraven do separační kapiláry hydrodynamicky $100\text{--}200 \text{ mbar.s}^{-1}$. Bylo dosaženo separace s RSD migračních časů pod 0,5 % a ploch píků mezi 2–4 %. Mez stanovitelnosti LOQ (10.S/N) byl $0,5\text{--}1 \text{ μg.ml}^{-1}$.

Syntetická barviva v bonbonech, pudincích, vínech, sirupech, limonádách, instantních a nealkoholických nápojích byla souběžně stanovena kapilární elektroforézou (CE) a kapalinovou chromatografií (HPLC) s diode-array detekcí^{57,58}. Výsledky obou metod byly ve velmi dobré shodě s výsledky UV-VIS spektrofotometrie. Jako základní elektrolyt pro CE byl zvolen borát/fosfátový pufr pH 9,0 ($12,5 \text{ mmol.l}^{-1}$ borátový pufr a $12,5 \text{ mmol.l}^{-1}$ fosfátový pufr 1:1) obsahující 40 mmol.l^{-1} dodecylsulfát sodný (SDS). Pro HPLC separaci

Tabulka III
Přehled podmínek separace syntetických barviv elektromigračními metodami

Mód CE	Elektrolyt	LOD [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	Lit.
ITP	ved. – 10 mM-HCl + β -alanin (pH 3,5) + 0,1 % methylhydroxycelulosa konc. – 5 mM kys. octová	–	51
CZE na ITP analyzátoru	30 mM TES (nosný ion) + 8 mM imidazol, 2 % PEG + 6 mM β -C (protiion) pH 6,8	–	52
CZE	20 mM borátový pufr pH 7–9	3	53
CZE	20 mM tetraboritanový pufr pH 7,5	1–3	54
MEKC 2	5 mM fosfátový + 25 mM borátový pufr 1:1 + 10 mM SDS	1	55
CZE	5 mM hydrogenuhličitanový pufr pH 10,5	0,5–1	56
MEKC	12,5 mM borát. + 12,5 mM fosfátový pufr 1:1 + 40 mM SDS	0,5– 1	57,58

na koloně Sepharon SGX C18 (3 \times 150 mm, 5 μm) byla jako mobilní fáze zvolena směs (30:70 v/v) acetonitrilu s vodným roztokem 50 mmol.l⁻¹ fosfátového pufru a 5 mmol.l⁻¹ tetrabutylamonium-hydroxidu (TBAOH) o pH 4,2. Relativní směrodatná odchylka pro jednotlivá stanovení byla menší než 0,5 % pro migrační časy a menší než 3 % pro plochy elektroforetických píků, menší než 0,9 % pro retenční časy a menší než 2,4 % pro plochy píků. Mez stanovitelnosti LOQ (10.S/N) pro jednotlivá přídatná barviva byl 0,5–1 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ při použití separační kapiláry o celkové délce 50 cm a 50 μm i.d., separačním potenciálu 30 kV, teplotě 30 °C a hydrodynamickém dávkování vzorku při tlaku 50 mbar po dobu 10 s, a/nebo 0,2–0,4 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ pro HPLC.

4. Závěr

Pro stanovení obsahu jednotlivých syntetických barviv ve vzorcích potravin, v nápojích a jejich koncentracích lze použít řadu separačních a optických metod (LC, CE, UV/VIS spektrofotometrie). Výsledky všech metod jsou obvykle ve velmi dobré shodě s výjimkou vzorků obsahujících směs barviv s podobnými absorpčními maximy. V tomto případě je jednoduchá metoda UV/VIS spektrofotometrie zatížena velkou chybou 10–15 %. Metoda je výhodná především u vzorků s jednoduchou maticí. V případech složitějších směsí barviv nebo barviv s podobnými optickými charakteristikami je vhodné použít více či méně komplikované postupy vícesložkové analýzy (PLS, nelineární regrese atd.).

Kapilární elektroforéza poskytuje velmi dobré výsledky i postačující citlivost stanovení. Její hlavní výhodou je především malá spotřeba vzorku a základního elektroforetického pufru, a krátká doba analýzy. Určitou nevýhodou CE ve srovnání s HPLC je nutnost oddělení látek ze vzorku, které by mohly mít za následek ucpání separační kapiláry. Uvedená metoda dává velmi dobré výsledky nejen v oblasti syntetických barviv potravinářských, ale i dalších barviv obsahujících alespoň jednu sulfo-, karboxy-, nebo hydroxyskupinu. Tato barviva v neutrálním nebo zásaditém prostředí tvoří negativně nabitě ionty a to umožňuje jejich snadné a rychlé stanovení metodou kapilární elektroforézy. Naopak u přírodních barviv se tyto skupiny nevyskytují vůbec nebo jen velmi ojediněle a to spolu s velikostí molekul jednotlivých přírodních barviv

komplikuje jejich stanovení kapilární elektroforézou.

Ke stanovení těchto barviv je mnohem jednodušší využít metodu HPLC, která je dokonale propracovanou metodou. LC dovoluje separaci ionogenních i neionogenních barviv, vyznačuje se jednoduchostí kvantifikace a v neposlední řadě i snadností identifikace barviv na základě jejich spektrálních charakteristik (UV-VIS, IR, MS atd.). V řadě případů odpadá složitá úprava vzorků před vlastní separací, citlivost stanovení je často o více než jeden řád lepší a pro většinu případů se vyznačuje i dostatečnou separační účinností.

Tato práce vznikla za finanční podpory Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy ČR, grant. reg. č. VS 97014.

LITERATURA

1. Kvasil B.: *Malá československá encyklopedie*, 1. vyd., str. 365. Academia, Praha 1984.
2. Vodrážka Z.: *Biochemie* [3], 1. vyd., str. 70. Academia, Praha 1993.
3. Davíček J., Janíček G., Pokorný J.: *Chemie potravin*, str. 268. SNTL/ALFA, Praha 1983.
4. Hrazdina G., Borzell A. J., Robinson W. B.: *Am. J. Enol. Vitic.* 21, 201 (1970).
5. Jurd L.: *The Chemistry of Plant Pigments*. Academic Press, New York 1972.
6. Robinson W. B., Weirs L. D., Bertino J. J., Mattick L. R.: *Am. J. Enol. Vitic.* 17, 178 (1966).
7. Riberau-Gayon P.: *Plant Phenolics*. Oliver and Boyd, Edinburgh 1972.
8. Asen S., Stewart R. N., Norris K. H.: *Phytochemistry* 11, 1139 (1972).
9. Asen S.: *Acta Horticult.* 63, 217 (1976).
10. Davíček J.: *Laboratorní příručka analýzy potravin*, str. 532. SNTL, Praha 1977.
11. Stratil P.: *ABC zdravé výživy*, díl 1., str. 332. Vlastním nákladem, Brno 1993.
12. Vyhláška MZ ČR č.2 98/1997 Sb, příloha č. 1, část 5 a příloha 9.
13. Drdák M., Daučík P., Kubaský J.: *J. Chromatogr.* 504, 207 (1990).
14. Bakker J.: *Int. Anal.* 2, 28 (1988).

15. Bridle P., Garcia-Viguera C.: *Food Chem.* 55, 111 (1996).
16. Cameira-Dos-Santos P. J.: *J. Sci. Food Agric.* 70, 204 (1996).
17. Bakker J., Timberlake C. F.: *J. Sci. Food Agric.* 36, 1315 (1985).
18. Bakker J., Preston N. W., Timberlake C. F.: *Am. J. Enol. Vitic.* 37, 121 (1986).
19. Bakker J.: *Vitis* 25, 203 (1986).
20. Drdák M., Daučík P., Kubaský J.: *Mitt. Klosterneuburg* 39, 224 (1989).
21. Drdák M., Daučík P.: *Mitt. Klosterneuburg* 39, 180 (1989).
22. Koswig S., Hofsommer H. J.: *Fluessiges – Obst* 62, 125 (1995).
23. Pribela A.: *Analýza cudzorodých látok v poživatinách*, str. 290. Alfa, Bratislava 1974.
24. Takahashi M. Z., Yabiku H. Z., Marsiglia D. A.: *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 48, 7 (1988).
25. Príbela A.: *Analýza potravín*. STU, Bratislava 1991.
26. Park H. K.: *Han'guk Noghyva Hakhoechi* 30, 201 (1987).
27. Greenway G. M., Kometa N., Macrae R.: *Food Chem.* 43, 137 (1992).
28. Shi L., Liu A., Zhuo Z.: *Fenxi Huaxue* 20, 1365 (1992).
29. Barros A. A., Rodrigues J. A., Magalhaes J.: *Port. Electrochim. Acta* 5, 317 (1987).
30. Korany K., Gasztonyi K.: *Elemiszervizsgalati Kozl.* 33, 108 (1987).
31. Ye S., Han H., Chem Y.: *Shipin Kexue* 67, 48 (1985).
32. Li S. F. Y.: *Capillary Electrophoresis, Principles, Practice and Application*. Elsevier, Amsterdam 1992.
33. Jandík P., Bonn G.: *Capillary Electrophoresis of Small Molecules and Ions*. VCH, New York 1993.
34. Hinks D., Croft S. N.: *J. Soc. Dyers Colour.* 108, 546 (1992).
35. Brumley W. C.: *J. Chromatogr.* 603, 267 (1992).
36. Brumley W. C., Brownrigg C. M.: *J. Chromatogr.* 646, 377 (1993).
37. Gasparic J., Sedmiková A.: *J. Chromatogr., A* 665, 197 (1994).
38. Kuo K. L., Huang H. Y., Hsieh Y. Z.: *Chromatographia* 47, 249 (1998).
39. Masár M., Kanianský D.: *J. Capillary Electrophor.* 3, 165 (1996).
40. Masár M., Kanianský D., Madajová V.: *J. Chromatogr., A* 724, 327 (1996).
41. Thompson C. O., Trenerry V. C.: *J. Chromatogr.* 704, 195 (1995).
42. Bocca A., Pierini N.: *Riv. Soc. Ital. Sci. Alimentazione* 9, 265 (1980).
43. Williams M. L.: *Food Chem.* 22, 235 (1986).
44. Chaytor J. P., Heal R. L.: *J. Chromatogr.* 368, 450 (1986).
45. Reynolds S. L., Scotter M. J., Wood R.: *J. Assoc. Public Anal.* 26, 7 (1986).
46. Ohto M., Mutanaga A., Yamamoto A., Saitou Y., Mizukami E.: *J. Food Hyg. Soc. Jpn.* 29, 192 (1988).
47. Ishikawa F., Saito K., Nakazato M., Fujinuma K.: *Annu. Rep. Tokyo Metropolit. Res. Lab. Public Health* 41, 101 (1990).
48. Chen Q. C., Mou S. F., Hou X. P., Riviello J. M., Ni Z. M.: *J. Chromatogr., A* 827, 73 (1998).
49. Zkušební metoda ČZPI, 1–9 (1993).
50. Gratzfeld-Hüsgen A., Schuster R.: *Application Note*. Hewlett-Packard 1995.
51. Karovičová J., Polonský J., Príbela A., Šimko P.: *J. Chromatogr.* 545, 413 (1991).
52. Lendacká M., Krčmová E.: *Identifikácia potravinárskych barviv metódou CZE*. ŠŠZÚ, Banská Bystrica 1997.
53. Liu H., Zhu T., Zhang Y., Qi S., Huang A., Sun Y.: *J. Chromatogr.* 718, 448 (1995).
54. Razee S.: *J. Chromatogr., A* 715, 179 (1995).
55. Suzuki S., Shirao M., Aizawa M.: *J. Chromatogr., A* 680, 545 (1994).
56. Gratzfeld-Hüsgen A., Schuster R.: *Application Note*, Hewlett-Packard 1995.
57. Šlampová A., Jančářová I., Smělá D., Kubáň V.: *Acta Univ. Agric. Silv. Mandel. Brunn.* 49, 3 (2001).
58. Jančářová I., Vondráčková A., Šlampová A., Kubáň V.: *Czech. J. Food Sci.* 18, 41 (2000).
59. Ni Y. N., Bai J. L., Jin L.: *Anal. Lett.* 30, 1761 (1997).

A. Šlampová, D. Smělá, A. Vondráčková, I. Jančářová, and V. Kubáň (*Department of Chemistry and Biochemistry, Mendel University of Agriculture and Forestry, Brno*): **Determination of Synthetic Colorants in Foodstuffs**

Synthetic dyes can be determined in solid food, in non-alcoholic drinks and their concentrates by several separation and spectrometric methods (LC, CE, UV/VIS). All the methods give similar results for most samples. Direct UV-VIS spectrophotometry gives very good results if a single colorant or a mixture of colorants of different absorption spectra is present or if the colorants can be completely separated by solid-phase extraction. If this is not the case, the simple multicomponent analysis leads to deviations up to 10–15 %. More complicated programs for multicomponent analysis (PLS, nonlinear regression) have to be used in such cases and also when other constituents (sugars, phenolics, etc.) are present at high concentrations.

Capillary electrophoresis (CE) is the method of choice for determination of anionic synthetic dyes in biological materials and foodstuffs since it can separate the dyes in a single analysis within a short run time, gives very precise and accurate results, reduces sample consumption and, under optimum conditions, is not time-consuming. The necessity of sample pretreatment is a certain disadvantage of CE in comparison with HPLC. CA also enables separation of synthetic colorants from hydrophobic natural pigments. For the identification and determination of the latter, LC methods are well established. Their sensitivity is usually by more than an order of magnitude higher, their separation efficiency is mostly sufficient, and sample pretreatment is simpler.

BIODEGRADAČNÍ PŘEMĚNY CHLOROVANÝCH ALIFATICKÝCH UHLOVODÍKŮ

MARKĚTA ŠPANĚLOVÁ

Ústav chemie ochrany prostředí, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6, e-mail: Marketa.Hrebikova@vscht.cz

Došlo dne 6.III.2000

Klíčová slova: biodegradace, trichlorethylen, tetrachlorethylen, methanogenní bakterie, dechlorace

Obsah

1. Úvod
2. Biodegradace chlorovaných uhlovodíků
 - 2.1. Aerobní biodegradace
 - 2.2. Anaerobní biodegradace
 - 2.2.1. Transformace za podmínek redukce Fe(III)
 - 2.2.2. Biodegradace za podmínek redukce síranů
 - 2.2.3. Biodegradace za methanogenních podmínek
3. Závěr

1. Úvod

Chlorované alifatické uhlovodíky se řadí v souvislosti se svým rozsáhlým průmyslovým použitím k prioritním kontaminantům životního prostředí. Tyto látky představují běžné kontaminanty podzemních vod a tvoří významnou součást nebezpečných odpadů a skládkových výluhů. V různých formách odpadů se z této skupiny vyskytují nejčastěji chlorované methany, chlorované ethany a chlorované etheny.

Chlorované methany se používají jako extrakční a chladicí činidla, rozpouštědla při výrobě plastů, k výrobě tetraethylolova atd. Chlorované ethany slouží jako surovina k výrobě vinylchloridu (VC), tri- a tetrachlorethylenu, jako chladicí činidla, insekticidy atd. Chlorované etheny se používají k odmašťování kovů, jako extrakční činidla v cukrovarnictví a živočišné výrobě, jako rozpouštědla a výchozí látky v chemických výrobcích.

Z průmyslového a komunálního odpadu se tyto látky dostávají do různých složek životního prostředí. V běžné skládce komunálního odpadu byl odhadnut¹ následující obsah těchto sloučenin: dichlormethan (DCM) přibližně 100 mg/kg, trichlorethen (TCE) přibližně 28 mg/kg, tetrachlorethen (PCE) přibližně 55 mg/kg a 1,1,1-trichlorethan (TCA) přibližně 52 mg/kg.

Chlorované alifatické uhlovodíky se řadí k látkám, které jen pomalu a obtížně podstupují biologickou transformaci. Obecně jsou tyto látky odolné k aerobní biodegradaci a snáze se přeměňují za anaerobních podmínek.

2. Biodegradace chlorovaných uhlovodíků

2.1. Aerobní biodegradace

Principem biodegradčního procesu je za aerobních podmínek ve většině případů kometabolismus. Jde o transformaci sloučenin, které neposkytují uhlík a energii pro růst mikroorganismů za současného využití jiné sloučeniny v roli primárního substrátu. V přirozeném půdním nebo skládkovém prostředí byla aerobní bio-oxidace podporována přítomností methanu. Ve vzorku sedimentu obohaceném methanem byla za těchto podmínek pozorována degradace TCE, DCE a VC (cit.²). Speitel a Closmann³ prokázali degradaci 1,2-DCA, TCE a trichlormethanu (TCM) ve vzorcích půd vystavených působení směsi methan/vzduch. Zvláště intenzívně byla sledována degradace karcinogenního VC, který se ukázal za těchto podmínek odbouratelný. VC byl s vysokou účinností degradován v biofilmovém reaktoru⁴ při teplotě 20 až 35 °C v koncentraci 1,8 až 9,6 mg.l⁻¹. Za biodegradaci byly v tomto případě odpovědné methanotrofní mikroorganismy využívající methan jako primární substrát a produkující enzym methanmonoxygenasu, který katalyzuje vlastní přeměnu chlorované sloučeniny.

Laboratorní experimenty zabývající se aerobní a fakultativně aerobní degradací vedly k izolaci čistých kultur schopných využít chlorované alkeny jako zdroj uhlíku a energie. Logan⁵ uvádí, že kmen druhu *Pseudomonas putida* je schopen za anaerobních podmínek degradovat chlorované alkeny na alkeny obsahující o dva atomy chloru méně. Za aerobních podmínek byly detegovány produkty oxidační i redukční reakce.

Sharma a McCarty⁶ izolovali z kontaminované půdy bakterie schopné provádět dechloraci PCE na (Z)-DCE. Podle svých charakteristik byly mikroorganismy zařazeny k rodu *Enterobacteriaceae*. Jde o rychle rostoucí kmen, označený MS-1, optimálně rostoucí při pH 7 a teplotě 37 °C. Mikroorganismus byl schopen dechlorovat PCE za aerobních i anaerobních podmínek, bez přítomnosti termodynamicky výhodných akceptorů elektronů jako je NO₃⁻. Ve stejných podmínkách byl testován i známý kmen *Enterobacter agglomerans*, velmi podobný kmenu MS-1, který rovněž dechloroval PCE na (Z)-DCE.

2.2. Anaerobní biodegradace

Anaerobní degradace nižších chlorovaných uhlovodíků se jeví jako nejdůležitější způsob jejich transformace v životním prostředí. Anaerobní rozklad zahrnuje obecně konverzi organických sloučenin na methan, oxid uhličitý a jiné anorganické produkty. Tento proces je realizován konsorciem mikroorganismů, které se podle zjednodušeného modelu skládá z acidogenních bakterií transformujících komplexní organické sloučeniny na nižší nasycené karboxylové kyseliny, oxid uhličitý a vodík a methanogenních bakterií, které konvertují kyselinu octovou, oxid uhličitý a vodík na methan. Z hlediska biodegradace kontaminantů v životním prostředí spočívá výhoda

těchto systémů především v dobré rozpustnosti živin ve vodě. Provedené laboratorní testy ukázaly, že anaerobní systémy jsou schopny při stejném množství přidaného donoru elektronů rozložit řádově vyšší množství kontaminantu než systémy aerobní, u kterých je aktivita mikroorganismů omezena rozpustností kyslíku.

Výzkum transformace chlorovaných uhlovodíků se nejčastěji provádí s ohledem na konkrétní kontaminované prostředí. V přírodě představují anaerobní prostředí například podzemní vody, říční sedimenty, půda, skládky odpadů, tedy oblasti často zasažené kontaminací vlivem lidské činnosti. Pro bližší charakteristiku anaerobního prostředí je možné použít typ probíhajícího redoxního děje. Základními redoxními ději v tomto prostředí jsou redukce dusičnanů, redukce Fe(III), redukce síranů a methanogeneze (uvedené sloučeniny představují konečné akceptory elektronů).

2.2.1. Transformace za podmínek redukce Fe(III)

Bradley a Chapelle⁷ sledovali mineralizaci VC v sedimentech za anaerobních podmínek s přidavkem vody a Fe-EDTA. Zjistili, že přidavek komplexu železa podpořil rychlou mineralizaci 15 až 34 % VC na CO₂. Dechlorace byla přitom srovnatelná s dechlorací za aerobních podmínek. Podobně byla popsána transformace tetrachlormethanu na trichlormethan⁸. V přítomnosti Fe(III) ve formě citrátu rychlost dechlorace trojnásobně vzrostla a navíc došlo k transformaci na dichlormethan. Bylo zjištěno, že transformace obtížně rozložitelných kontaminantů je podpořena přítomností silného oxidačního činidla. Účinnost procesu může být zvýšena, pokud je železo Fe(III) v mikrobiologicky dostupné formě, např. ve formě komplexů s organickými ligandy⁹.

2.2.2. Biodegradace za podmínek redukce síranů

Sulfát-redukující podmínky představují velmi rozšířený typ anaerobního prostředí. Bagley a Gossett¹⁰ pozorovali v sulfát-redukující směsné kultuře degradaci PCE za vzniku TCE, (Z)-DCE a stechiometrického množství sulfidů. Freedman a kol.¹¹ popsali dechloraci CT na TCM a DCM stejným typem kultury. Významný krok představovala izolace dechloračního mikroorganismu *Desulfomonile tiedjei* DCB-1 z anaerobního kalu¹². Tento nový druh sulfát-redukující bakterie může získávat energii pouze prostřednictvím přenosu elektronů na 3-chlorbenzoát a v době svého objevení se jednalo o jediný mikroorganismus, který používal redukční dechloraci jako nový typ anaerobní respirace¹³. Důležité je, že paralelně s redukcí 3-chlorbenzoátu je tento kmen schopen degradovat PCE (cit.^{14,15}).

2.2.3. Biodegradace za methanogenních podmínek

Methanogenní bakterie se v přírodě účastní poslední fáze degradace organické hmoty. Vzhledem k substrátové specifitě jsou závislé na jiných bakteriálních skupinách, zvláště na mikroorganismech produkujících vodík. Typickým prostředím, ve kterém se methanogenní podmínky rozvíjejí je skládka komunálních odpadů. Johansson a kol.¹⁶ prokázali schopnost mikroorganismů v anaerobní části skládky transformovat PCE za vzniku TCE a DCE za použití vzorků odpadu rozpuštěných ve fosfátovém pufru. V jiném experimentu byla ve skládko-

vém výluhu na pískové matrici pozorována degradace CT, TCA, TCE a PCE (cit.¹⁷). Christensen a kol.^{18,19} sledovali biodegradaci chlorovaných alifatických uhlovodíků na skládce komunálního odpadu. Zjistili, že TCA a tetrachlormethan byly v kapalně fázi degradovány ze 70 až 90 % po 50 dnech, zatímco rozklad PCE probíhal mnohem pomaleji. Z uvedených výsledků vyplývá, že během poslední fáze skládkového procesu probíhají s velkou pravděpodobností přeměny všech nižších chlorovaných uhlovodíků s výjimkou VC, který je přístupný k aerobní degradaci.

Úlohu methanogenů při biodegradaci DCM ve směsné anaerobní kultuře studovali Freedman a Gossett^{20,21}. Za podmínek aktivní methanogeneze byl DCM odbouráván za vzniku stechiometrického množství methanu. DCM byl však odbouráván i v případě, kdy byla methanogeneze inhibována přidavkem specifického inhibitoru bromethansulfonové kyseliny, a to za vzniku kyseliny octové. Dechlorace tudíž probíhá v methanogenních podmínkách, ale je pravděpodobně zprostředkována některým z acetogenních mikroorganismů. Významnou roli mohou hrát v tomto procesu i abiotické faktory prostředí²². Tetrachlormethan byl granulovaným methanogenním kalem rostoucím na methanolu degradován až na methylchlorid, přičemž v autoklávaných vzorcích byla pozorována stejně rychlá degradace na trichlormethan. Specifickou inaktivací vitamínu B12 dechlorace v paralelně připravených abiotických vzorcích značně poklesla, což potvrzuje redukční účinek této sloučeniny.

Biodegradaci PCE v koloně s pevnou fází za ustálených methanogenních podmínek dokumentovali Vogel a McCarty²³. PCE byl sekvenčně dechlorován na TCE, DCE, VC a stopy CO₂ z počáteční koncentrace 300 µg.l⁻¹ na 5 µg.l⁻¹. Rovněž anaerobní kal z čistírny odpadních vod má velkou dechlorační schopnost²⁴. Přidavkem specifického inhibitoru methanogeneze se však dechlorace PCE snížila z původních 80 % na 35 %. Podobný účinek inhibitoru methanogeneze na dechlorační proces byl dokumentován v řadě studií²⁵⁻²⁷. Fathpure^{14,28} odvozuje úlohu methanogenů ze spotřeby některých typických methanogenních substrátů jako je methanol, vodík a mravenčan, které směsné methanogenní kultury využívají, stejně jako z inhibice procesu po inhibici methanogeneze.

Testování dechlorační schopnosti čistých methanogenních kmenů ukázalo, že methanogenní bakterie jsou schopny degradace PCE a TCE, ale ve výrazně nižší míře než směsná kultura²⁵. Není tedy vyloučeno, že inhibice methanogeneze vede k inaktivaci jiných mikroorganismů, které se na dechloraci podílí, např. akumulací methanogenních substrátů.

Je zřejmé, že směsná anaerobní kultura je pro dechloraci chlorovaných uhlovodíků zvláště vhodná. V tomto prostředí se odehrávají vzájemné interakce mezi jednotlivými mikrobiálními společenstvy, které vytvářejí podmínky pro vývoj jednotlivých kultur a prováděpodobně i pro vlastní dechlorační proces. Přítomnost fermentačních mikroorganismů ve směsné methanogenní kultuře^{29,30} podpořila degradaci TCE na VC ve srovnání se směsnou methanogenní kulturou na specifickém médiu, která nevykázala žádnou přeměnu TCE. V jiném případě³¹ bylo úplné dechlorace PCE dosaženo kombinací dvou typů inokula – říčního sedimentu a anaerobního granulovaného kalu. Za použití směsné kultury vyvinuté z granulovaného kalu byla pozorována pouze částečná a pomalá dechlorace. Transformace chlorovaných ethenů by-

la pozorována ve směsné kultuře vyvinuté ze sedimentů³² a z nekontaminované i dlouhodobě kontaminované půdy³³.

Ve směsných kulturách adaptovaných na PCE byla pozorována biodegradace vysokých koncentrací tohoto kontaminantu^{34,35}. Zvyšování koncentrace PCE přitom často způsobilo úbytek až zastavení produkce methanu a tím i změnu zastoupení mikroorganismů. Stupeň dechlorace PCE se však i při vysoké koncentraci pohyboval kolem 80 %.

Pro přesnou charakteristiku biodegradačního procesu a podmínek, za kterých k němu dochází je však žádoucí identifikovat příslušný mikroorganismus, který je za dechloraci odpovědný. Dosud bylo publikováno pouze několik prací, které se zabývají dechlorační schopností čistých kultur. Fathepure¹⁴ testoval schopnost vybraných čistých kmenů běžně se vyskytujících v prostředí biodegradace chlorovaných uhlovodíků (kmeny rodu *Methanosarcina*, *Methanotrix*, druhu *Desulfovibrio desulfuricans*, *Clostridium* a kmen DCB-1). Značnou dechloraci PCE vykázaly kmeny DCB-1, *Methanosarcina* sp. a *Methanosarcina mazei*. Významná je zvláště dechlorační schopnost kmenů rodu *Methanosarcina*, protože tyto mikroorganismy se běžně vyskytují v methanogenním prostředí. Je tedy zřejmé, že na dechloraci se mohou podílet samotné methanogenní bakterie. V jiné práci³⁶ vykázaly bakterie *Methanosarcina* sp. kmen DCM výraznou dechloraci PCE na TCE, přičemž byla pozorována jasná závislost této dechlorace na spotřebě methanogenního substrátu, methanolu.

V nedávné době byly popsány čisté kultury dvou striktně anaerobních mikroorganismů, které spojují redukční dechloraci se svým růstem^{13,37}. Jde o kmeny druhu *Dehalospirillum multivorans* a *Dehalobacter restrictus*, které využívají chlorované etheny jako konečné akceptory elektronů. Kmen řadící se k druhu *Dehalobacter restrictus* využíval vodík jako donor elektronů a podle elektronové bilance představovala oxidace vodíku a dehalogenace TCE společně redoxní proces, při němž byla generována veškerá potřebná energie³⁸.

Maymó-Gatell³⁹ izoloval ze směsné kultury dechlorující PCE čistý kmen prozatímne nazvaný *Dehalococcoides ethenogenes* kmen 195, který vykazoval růst pouze v přítomnosti PCE a vodíku. Dechlorace PCE probíhala s účinností vyšší než 90 % na VC a ethylen, přičemž degradace VC nastoupila až po úplném odstranění PCE ze systému.

3. Závěr

Biodegradační přeměny chlorovaných alifatických uhlovodíků v prostředí jejich častého výskytu se ukázaly jako pravděpodobné, a to zvláště za anaerobních vysoce redukčních podmínek. Takové prostředí představují zejména skládky komunálního odpadu v methanogenní fázi rozkladného procesu. Vzhledem k nebezpečným vlastnostem uvedených kontaminantů, zvláště vinylchloridu, který byl identifikován ve skládkovém plynu, a s přihlédnutím k probíhající sanaci starých skládkových těles představuje výzkum biodegradace těchto látek vysoce aktuální problém.

LITERATURA

- Christensen T. H., Cossu R., Stegmann R.: *Landfilling of Waste: Biogas*. E&FN Spon, London 1996.
- Fogel M. M., Taddeo A. R., Fogel S.: *Appl. Environ. Microbiol.* 51, 720 (1986).
- Speitel G. E., Closmann F. B.: *ASCE Environ. Eng. Speciality Conference, July 10–12 (1989)*.
- Nelson B. Y., Jewell W. J.: *J. Environ. Eng.* 119, 890 (1993).
- Logan M. S. P., Newman L. M.: *Biodegradation* 4, 39 (1993).
- Sharma P. K., McCarty P. L.: *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 761 (1996).
- Bradley P. M., Chapelle F. H.: *Environ. Sci. Technol.* 30, 2084 (1996).
- Petrovskis E. A., Vogel T. M., Saffarini D. A., v knize: *Bioremediation of Chlorinated Solvents* (Hinchee R. E., ed.), str. 6. Battelle Press, Columbus 1995.
- Lovely D. R., Woodward J. C., Chapelle F. H.: *Nature* 370, 128 (1994).
- Bagley D. M., Gossett J. M.: *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 2511 (1990).
- Freedman D. L., Lasecki M., Hashsham S., v knize: *Bioremediation of Chlorinated Solvents* (Hinchee R. E., ed.), str. 123, Battelle Press, Columbus 1995.
- Shelton D. R., Tiedje J. M.: *Appl. Environ. Microbiol.* 48, 840 (1984).
- Holliger Ch., Schraa G., Stams A. J.: *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 2991 (1993).
- Fathepure B. Z., Nengu J. P., Boyd S. A.: *Appl. Environ. Microbiol.* 53, 2671 (1987).
- Fathepure B. Z., Tiedje J. M.: *Environ. Sci. Technol.* 28, 746 (1994).
- Johansson E., Ejlertsson J., Karlsson A.: *4. International Landfill Symposium, Sardinia 2.–6.10.1995*. Proceedings str. 143.
- Kromann A., Ludvigsen L., Christensen T. H.: *4. International Landfill Symposium, Sardinia 2.–6.10.1995*. Proceedings str. 136.
- Christensen T. H., Albrechtsen H. J., Kromann A.: *4. International Landfill Symposium, Sardinia 1993*.
- Deipser A., Stegmann R.: *6. International Landfill Symposium, Cagliari 13.–17.10.1997*. Proceedings str. 207.
- Freedman D. L., Gossett J. M., v knize: *On-Site Bioreclamation* (Hinchee E., Olfenbittel R. F., ed.), str. 539. 1991.
- Freedman D. L., Gossett J. M.: *Appl. Environ. Microbiol.* 57, 2847 (1991).
- Van Eekert M. H., Veiga M. C., Field J. A., v knize: *Bioremediation of Chlorinated Solvents* (Hinchee R. E., ed.), str. 139. Battelle Press, Columbus 1995.
- Vogel T. M., McCarty P. L.: *Appl. Environ. Microbiol.* 49, 1080 (1985).
- Farthepure B. Z., Boyd S. A.: *FEMS Microbiol. Lett.* 49, 149 (1988).
- Freedman D. L., Gossett J. M.: *Appl. Environ. Microbiol.* 55, 2144 (1989).
- Farthepure B. Z., Boyd S. A.: *FEMS Microbiol. Lett.* 49, 149 (1988).
- DiStefano T. D., Gossett J. M., Zinder S. H.: *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 3622 (1992).
- Farthepure B. Z., Boyd S. A.: *Appl. Environ. Microbiol.* 54, 2976 (1988).
- Baek N. H., Jaffé P. R.: *J. Environ. Qual.* 18, 515 (1989).

30. Baek N. H., Jaffé P. R., Shingal N.: *J. Environ. Sci. Health, Part A* 25, 987 (1990).
31. Bruin W. P., Kotterman J. J., Posthumus M. A.: *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 1996 (1992).
32. Barrio-Lage G., Parsons F. Z., Nassar R. S.: *Environ. Sci. Technol.* 20, 96 (1986).
33. Noftsker C., Watwood M. E.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 48, 424 (1997).
34. DiStefano T. D., Gossett J. M., Zinder, S. H.: *Appl. Env. Microbiol.* 57, 2287 (1991).
35. Tandoi V., DiStefano T. D., Bowser P. A.: *Environ. Sci. Technol.* 28, 973 (1994).
36. Farthepure B. Z., Boyd S. A.: *Appl. Environ. Microbiol.* 54, 2976 (1988).
37. Scholz-Muramatsu H., Neumann A., Messmer M.: *Arch. Microbiol* 163, 48 (1995).
38. Wild A., Hermann R., Leisinger T.: *Biodegradation* 7, 507 (1996).
39. Maymó-Gatell X., Chien Y., Gossett J. M.: *Science* 276, 1568 (1997).

M. Španělová (*Department of Environment Protection, Institute of Chemical Technology, Prague*): **Biodegradation Transformations of Chlorinated Aliphatic Hydrocarbons**

The review summarizes the present knowledge of biodegradation of chlorinated aliphatic hydrocarbons in environment. Transformation of these compounds by aerobic, facultative aerobic and anaerobic microorganisms in mixed and pure cultures is discussed. The anaerobic biodegradation under methanogenic conditions was shown to be a successful pathway for dechlorination of the compounds.

KATALYTICKÁ OXIDACE UHLÍKATÝCH MATERIÁLŮ

VÁCLAV SLOVÁK

Katedra chemie, Vysoká škola báňská–Technická univerzita Ostrava, tř. 17. listopadu, 708 33 Ostrava-Poruba, e-mail: vaclav.slovak@vsb.cz

Došlo dne: 16.V.2000

Klíčová slova: katalytická oxidace, uhlíkaté materiály

Obsah

1. Úvod
2. Oxidace uhlíkatých materiálů bez minerálních příměsí
 - 2.1. Oxidace grafitu a diamantu
 - 2.2. Oxidace sazí a pyrolýzního uhlíku
3. Vliv anorganických sloučenin na oxidaci uhlíkatých materiálů
 - 3.1. Oxidace uhlí a koksu
 - 3.2. Vliv katalyzátorů na oxidaci uhlí a koksu
 - 3.3. Vliv katalyzátorů na oxidaci grafitu a sazí
4. Závěr

1. Úvod

V poslední době se zvyšuje zájem o problematiku katalyzované oxidace nebo oxidační pyrolýzy uhlíkatých látek. Vzhledem k různorodosti těchto materiálů je tento příspěvek orientován především na problematiku katalytické oxidace nejvýznamnějších zástupců – uhlí, koksu, sazí a grafitu.

Velký význam má výzkum vlivu katalyzátorů na oxidaci uhlí, neboť jeho energetické využití i některé metody jeho chemického zpracování jsou založeny na úplné nebo částečné oxidaci. Použití katalyzátorů umožňuje zvyšovat efektivitu spalování nebo řídit průběh oxidačně pyrolýzních reakcí. Na oxidaci koksu a jeho interakci se sloučeninami kovů je založena větší část hutnického průmyslu. Pochopení mechanismu této interakce mezi uhlíkatým a anorganickým materiálem má význam nejen při vlastní výrobě kovů, ale i při zpracování hutnických odpadů. Saze a jiné formy uhlíku vznikající pyrolýzou kapalných nebo plyných organických sloučenin mají rozsáhlé průmyslové použití. Jejich odolnost vůči oxidaci je obvykle jedna z jejich významných charakteristik. V některých případech jsou saze naopak nežádoucím faktorem a je nutné jejich odstranění. Katalytická oxidace je z tohoto pohledu rozšířenou metodou. Na druhé straně je grafit technický materiál, při jehož aplikaci je vysoká odolnost vůči oxidaci vyžadována. Její snížení vlivem nečistot vede k ekonomickým ztrátám případně až k haváriím.

Cílem tohoto příspěvku je podat přehled o katalytické oxidaci uhlí, koksu, sazí a grafitu. Aby bylo možné tuto

problematiku zevrubněji posoudit, je v příspěvku diskutována i oxidace uhlíkatých materiálů bez minerálních příměsí. Katalytická oxidace ani oxidace uhlíkatých materiálů zatím v tomto rozsahu přehledně zpracována nebyla, s výjimkou referátu¹ zabývajícího se pouze oxidací sazí.

2. Oxidace uhlíkatých materiálů bez minerálních příměsí

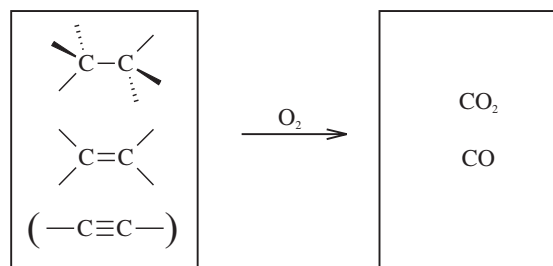
Za uhlíkaté látky lze považovat takové materiály, v nichž převažuje prvek uhlík. Vzhledem ke schopnosti uhlíku tvořit pevné vazby C–C je logické, že převažujícím typem vazeb v těchto materiálech jsou právě vazby uhlík–uhlík. Zjednodušíme-li úvahy o oxidaci uhlíkatých materiálů na jejich totální oxidaci kyslíkem, lze proces vystihnout schématem na obr. 1.

Jednoduché vazby uhlík–uhlík se vyskytují především v méně metamorfovaných fosilních palivech (ropa, rašelina, hnědé uhlí), v biomase a ve většině odpadních plastů. Výjimečné systémy C–C vazeb představují diamant a fullereny. Vazby C–C jsou odolné vůči iontovým činidlům, ale snadno podléhají radikálovým reakcím, ke kterým patří i oxidace molekulárním kyslíkem.

Vazby C=C se v uhlíkatých materiálech zřídka vyskytují jako izolované. Výjimku tvoří především skupina dienových polymerů (kaučuky). Izolované dvojné vazby představují centra, snadno podléhající reakcím s elektrofilními i radikálovými činidly. Častějším případem jsou konjugované systémy, především aromatické. Díky delokalizaci π -elektronů jsou velmi chemicky stálé, a tedy i odolné vůči oxidaci. Uhlíkaté aromatické systémy převažují u více metamorfovaných fosilních paliv (černé uhlí, antracit) a v produktech pyrolýzy uhlíkatých látek (polokoksy, koksy, dřevěné uhlí, saze). Dokonalým systémem kondenzovaných aromatických kruhů s největší mírou delokalizace π -elektronů je grafit.

Trojně vazby uhlík–uhlík se v běžných uhlíkatých materiálech prakticky nevyskytují díky jejich značné reaktivitě. Přesto mají význam v meziproduktech oxidačních a dehydrogenačních reakcí.

Hlavními produkty totální oxidace uhlíkatých látek jsou oxid uhelnatý a uhlíčitý. Jejich obsah závisí především na podmínkách oxidace (teplota, oxidační atmosféra), ale také na struktuře a složení uhlíkaté látky. Sledování obsahu těchto



Obr. 1. Schéma hlavního procesu při totální oxidaci uhlíkatých látek kyslíkem

oxidů v oxidačních produktech může přinést podstatné informace o mechanismu oxidace.

Uhlíkaté materiály lze z hlediska průběhu jejich oxidace rozdělit na

- krystalický uhlík (grafit a diamant),
- uhlíkaté látky bez minerálních příměsí (saze či různé formy amorfního uhlíku vznikající sekundární pyrolýzou),
- uhlíkaté látky obsahující minerální složky (uhlí, polokoks, koks, biomasa).

Oxidace grafitu a diamantu (kapitola 2.1.) má mimořádný význam pro pochopení oxidace všech ostatních uhlíkatých materiálů a rovněž její technický význam je nepopíratelný. Grafit je navíc často používán jako modelový systém pro studium vlivu aditiv na oxidaci uhlíkatých látek.

Uhlíkaté látky bez minerálních příměsí (kapitola 2.2.) obsahují kromě uhlíku i malá množství organicky vázaného vodíku, kyslíku, dusíku a síry. Společným znakem této skupiny látek je velmi nízký obsah popelovin; jejich reaktivita z hlediska oxidace je dána především strukturou uhlíkatého skeletu.

Při oxidaci uhlíkatých látek obsahujících minerální příměši (kapitola 3) probíhají již velmi komplexní procesy. Reaktivita těchto látek vůči oxidaci je výrazně ovlivněna především kvalitou a kvantitou anorganických příměsí, přičemž vliv struktury uhlíkatého skeletu je částečně potlačen.

Zvláštní skupinu uhlíkatých látek představují plasty. Podrobný rozbor jejich oxidace přesahuje rámec tohoto příspěvku.

2.1. Oxidace grafitu a diamantu

Přestože oxidace materiálů tvořených čistým uhlíkem se zdá být jednoduchým dějem popsitelným několika málo rovnicemi, skrývá tento proces mnohé nejasnosti a podrobný výzkum již přinesl mnohá překvapení.

Grafit je za běžných podmínek termodynamicky nejstabilnější modifikací uhlíku. Díky své elektrické vodivosti a vysoké chemické odolnosti je významným technickým materiálem.

Při studiu² interakce molekul kyslíku s povrchem grafitu bylo zjištěno, že i strukturně dokonalé povrchové vrstvy grafitu jsou vůči kyslíku velmi reaktivní. S kyslíkem reagují již za velmi nízkých teplot (173 K). Důvodem je skutečnost, že antivazebné molekulové orbitály kyslíku jsou schopny interakce s π -elektrony grafitu, jejichž hustota je u dokonalé struktury vysoká. Tato interakce umožňuje disociaci molekuly kyslíku a vzniklé atomární částice jsou tak reaktivní, že dojde k narušení povrchové struktury oxidací některého z uhlíkových atomů. Vytvořený defekt ve struktuře snižuje hustotu π -elektronů ve svém okolí a zabraňuje tak další oxidaci za nízkých teplot. Takto se velmi rychle reaktivní dokonalá struktura grafitu pasivuje a odolává další oxidaci až do vysokých teplot. Prvním krokem při vysokoteplotní oxidaci je pak odstranění pasivujících defektů. Struktura se zdokonaluje a je znovu schopna sorbovat molekuly kyslíku.

Poněkud v rozporu s těmito představami jsou závěry vyplývající ze studia³ změn měrného povrchu grafitu v průběhu oxidace při teplotách v rozsahu 600–800 K, při němž bylo zjištěno, že při nižších teplotách (623–693 K) měrný povrch grafitu prudce roste ještě při vyhoření 70 % hmotnosti vzorku. Naproti tomu při vyšších teplotách (713–793 K) měrný povrch grafitu na počátku oxidace roste jen zvolna a asi při vyhoření

50 % hmotnosti začíná klesat. Pozorované skutečnosti byly přiřčeny změnám v reaktivitě defektů ve struktuře grafitu a difuzi kyslíku a produktů oxidace. Při nižších teplotách napadá kyslík reaktivní místa struktury (hrany zrn, defekty na povrchu), ale nereaguje s plochami s dokonalou strukturou. Díky tomu dochází ke vzniku pórů v místech defektů, póry se postupně prohlubují, povrch roste, ale velikost částic se příliš nemění. Při vysoké teplotě mají molekuly kyslíku dostatečnou energii k napadení strukturně dokonalých ploch na povrchu zrn. Rychlost oxidace povrchu převažuje nad rychlostí difuze kyslíku do případných pórů, takže na vnitřním povrchu k oxidaci prakticky nedochází. Zrna se postupně zmenšují, celkový povrch tedy mírně roste a při vyšším stupni vyhoření klesá se zánikem zrn.

Jiný přístup ke studiu oxidace grafitu byl nedávno založen⁴ na bombardování nízkoenergetickými ionty, které vedlo k vytvoření umělých defektů s definovanou hloubkou a velikostí na vrstvách grafitu s dokonalou strukturou, a sledování jejich změn při oxidaci kyslíkem při teplotách okolo 800 K. Na základě identifikace různých typů adsorbovaného kyslíku a výpočtů se podařilo na atomární úrovni zdůvodnit rozdíly mezi anizotropní jednovrstevnou a izotropní vícevrstevnou oxidací grafitových vrstev. Autoři této studie později určili⁵ i kinetické parametry jedno- a vícevrstevné oxidace a věnovali se i vlivu typu strukturních defektů na průběh oxidace⁶.

Zajímavým příspěvkem ke studiu oxidace grafitu je počítačové modelování průběhu reakce založené na pravděpodobnosti reakce různých typů uhlíkových atomů⁷. Na základě této simulace byly interpretovány experimentálně pozorované rozdíly ve tvaru důlků vzniklých jednovrstevnou oxidací (kruhové a hexagonální tvary). Nepodařilo se však realisticky modelovat oxidaci probíhající současně na více vrstvách grafitu.

Porovnání oxidace grafitu a diamantu bylo provedeno v práci⁸. Oxidace diamantu je podobně jako u grafitu anizotropní a probíhá⁸ rychleji na rovinách (100) než na rovinách (111). Odolnost přírodního diamantu je srovnatelná se stabilitou grafitu. Vrstvy v syntetických diamantech však vykazují vyšší stabilitu díky vhodné orientaci krystalů ve vrstvách. Vzhledem ke značné stabilitě uhlíku ve stavu sp^3 začíná oxidace diamantu na místech obsahujících sp^2 uhlíky, tedy na hranách, zlomech a povrchových mřížkových poruchách.

2.2. Oxidace sazí a pyrolýzního uhlíku

Skupina uhlíkatých látek bez minerálních příměsí, kterou lze zjednodušeně pojmenovat jako saze, je tvořena především produkty pyrolýzy plyných nebo kapalných organických sloučenin nebo jejich směr. Přestože se v souvislosti s těmito látkami často hovoří o amorfním uhlíku, jedná se ve většině případů o formy mikrokystalického grafitu. Společným znakem těchto látek je relativně velký povrch a mimořádné adsorpční schopnosti.

Vyčerpávající přehled různých přístupů k modelování vzniku a oxidace sazí byl zveřejněn Kennedym¹.

Kinetickými aspekty oxidace sazí se zabývali Gilot se spolupracovníky⁹. Izotermickými experimenty sledovali rychlost hoření sazí v závislosti na parciálním tlaku kyslíku a dospěli k závěru, že v oblasti teplot 900–1000 K dochází ke změně mechanismu oxidace. Pod touto teplotou je nejpomalejším dějem rychlost vlastní chemické reakce, která tak určuje cel-

kovou rychlost oxidace. Při vyšších teplotách se naopak řídícím dějem stává difuze kyslíku k povrchu sazí. Tato zjištění jsou v souladu i s jinými pracemi (viz např.¹⁰). Ve zmíněné práci⁹ byly rovněž sledovány změny specifického povrchu v závislosti na stupni vyhoření sazí. Výsledky se shodují s daty změřenými pro grafit³.

Kinetika oxidace sazí byla studována i dalšími autory¹¹. Ti sledovali dva různé typy sazí (dieselové a plamenové) a našli v obou případech prakticky shodné reakční řády vzhledem k uhlíku ($n_C = 0,7$) a kyslíku ($n_O = 1$). Byl také zjištěn výrazný vliv vody na oxidaci plamenových sazí, který se projevoval zvýšením reakčního řádu vzhledem k uhlíku a zvýšeným poměrem CO_2/CO v produktech.

Při studiu kinetiky¹² oxidace pyrolýzního uhlíku vznikajícího sekundární pyrolýzou směsí uhlí s různými aditivami byly identifikovány a popsány dvě formy uhlíku kineticky se lišící reakčním řádem vzhledem k uhlíku a tedy mechanismem jejich oxidace.

3. Vliv anorganických sloučenin na oxidaci uhlíkatých materiálů

3.1. Oxidace uhlí a koksu

Uhlí je heterogenní systém obsahující vedle aromatických makromolekul i nízkomolekulární organické a anorganické látky.

Při zahřívání uhlí v oxidační atmosféře probíhají dva následné procesy, které se vždy více či méně překrývají. V první fázi dochází k uvolňování těkavých složek a produktů pyrolýzy uhlí, které se pak homogenním mechanismem oxidují v plynné fázi. Tato první část oxidačního procesu je silně ovlivněna množstvím a kvalitou těkavých složek, porozitoutou a velikostí částic uhlí. Vliv přítomných minerálních složek se projevuje už v průběhu pyrolýzy. Kovové oxidy a soli jsou známými a používanými katalyzátory mnoha organických reakcí, z nichž reakce dehydrogenační, dehydratační, dekarboxylační a dekarboxylační mají v průběhu pyrolýzy velký význam. Obsah minerálních látek tedy bude mít značný vliv na složení těkavých produktů pyrolýzy a současně i na vlastnosti a strukturu uhlíkatého zbytku – polokoku.

Po odstranění těkavých složek a částečně už v jeho průběhu začíná docházet k postupné oxidaci vznikajícího polokoku. Oxidační reaktivita polokoku je značně ovlivněna přítomnými anorganickými sloučeninami. Se snižujícím se obsahem popelovin (demineralizované uhlí) je obvykle pozorovatelné zvýšení teploty hoření.

Z hlediska vlivu minerálů je oxidace koksu podobná oxidaci polokoku. I zde jde o heterogenní reakci, která je ovlivněna přítomnými sloučeninami kovů. Rozdíl ve struktuře uhlíkatého skeletu však u koksu posouvá všechny děje k vyšším teplotám.

Minerální látky obsažené v uhlí ovlivňují tedy oxidaci uhlí a koksu zdánlivě ve dvou stupních. V prvním stupni se účastní pyrolýzy, kde se podílejí na vzniku polokoku nebo koksu. Ve druhém stupni pak přímo katalyzují (příp. inhibují) heterogenní oxidační reakci pyrolýzního produktu. Pohlížíme-li však na pyrolýzu uhlí jako na parciální oxidaci, pak je zřejmé, že oba uvažované stupně působení minerálních látek mohou mít mnoho společného.

Z naznačených úvah nelze vyloučit ani samotný proces vzniku uhlí. Podle běžných představ o oxidaci a redukci je uhlí produktem parciální oxidace původní rostlinné hmoty. Při tomto procesu rovněž asistovaly anorganické látky a zdá se velmi pravděpodobné, že kvalita dnešního uhlí je ovlivněna minerálními látkami přítomnými v průběhu jeho vzniku. Svědčí o tom i studie¹³, ve které byly sledovány vztahy mezi stupněm prouhelnění a chemickým a minerálním složením uhlí. Dále bylo poukázáno¹⁴ na propojení jednotlivých minerálních složek s konkrétními organickými složkami uhlí.

Při oxidaci směsí různých uhelných paliv dochází k silnému vzájemnému ovlivňování jednotlivých složek a jejich minerálních částí. Hoření složek ve směsi vykazuje odlišné parametry od jejich hoření samostatně, přičemž pro tyto změny neexistují dosud vhodné predikční modely. Komplikovanost sledování oxidace směsí uhlíkatých paliv byla doložena např. na směsi uhlí a grafitu¹⁵.

3.2. Vliv katalyzátorů na oxidaci uhlí a koksu

Hlavními důvody pro přidávání minerálních látek k energetickému uhlí jsou snížení emisí škodlivin a dokonalejší spalení paliva.

Posuzování vlivu aditiv na kinetiku oxidace uhlí a koksu je komplikováno již přítomnými anorganickými složkami, jejichž působení překrývá sledovaný vliv aditiv. Běžně se proto pro studium katalytických efektů používají definovanější uhlíkaté materiály (grafit, saze). Pro modelování oxidace koksu byl navržen pyren¹⁶.

Vlivem minerálů přítomných v uhlí a aditiv na energetiku spalování se zabývá práce¹⁷. Autoři prokázali značné energetické ztráty v průběhu spalování způsobené endotermickými rozklady anorganických příměsí.

Běžnými látkami přidávanými k uhlí z důvodů snížení emisí oxidu siřičitého jsou vápenaté a hořečnaté sloučeniny. Vlivem těchto látek na emise a rychlost či teplotu spalování se zabývá několik prací^{18,19}. Při studiu¹⁸ vlivu impregnace uhlí octanem vápenatým a hořečnatým na teplotu hoření uhelné částice a na obsah oxidu siřičitého a oxidu dusíku v plynných produktech bylo zjištěno, že přítomnost těchto solí zvyšuje teplotu hoření, mírně zvyšuje obsah oxidů dusíku a razantně snižuje obsah SO_2 . Naproti tomu¹⁹ přítomnost síranu, uhličitanu nebo oxidu vápenatého podstatně zvyšuje rychlost oxidace polokoku. Tato katalytická aktivita roste v řadě $CaCO_3 < CaSO_4 \ll CaO$.

Množství prací bylo věnováno katalytickému vlivu sloučenin alkaliických kovů, které tvoří podstatnou část anorganické složky uhlí. Tak bylo zjištěno²⁰, že uhličitany a chloridy, příp. jejich směsi urychlují rozklad uhlí na vzduchu, v dusíku i v oxidu uhličitém a zvyšují podíl oxidu uhelnatého v produktech. Nejvýraznější efekt vykazoval uhličitán lithný. Směsi solí měly většinou výraznější vliv než čisté látky.

Vliv uhličitánu draselného na hoření polokoku a antracitu byl sledován Wagnerem a Muhlenem²¹, kteří pro účinek K_2CO_3 na teplotu vznícení uhlí navrhli mechanismus podobný mechanismu působení této látky při zplyňování uhlí²². Autoři předpokládají hydrolýzu uhličitánu vlivem vlhkosti na hydroxid, jehož nízká teplota tání umožňuje rychlou distribuci katalyzátoru po povrchu částice uhlí. Ve sledu reakcí, které

pak vedou k oxidaci uhlí, vystupuje jako intermediát i kovový draslík.

Studium²³ vlivu loužení v roztavených alkalických hydroxidech na hoření černého uhlí a antracitu ukázalo, že teplota hoření černého uhlí nebyla působením roztavených alkálií prakticky ovlivněna. U antracitu však byl pozorován velmi výrazný efekt, neboť jeho teplota hoření se snížila o 150–200 K. Ze studia vyplývá, že zvýšená reaktivita louženého antracitu je způsobena spíše fyzikálními změnami na povrchu částic než chemickými vlivy.

Zajímavý příspěvek představuje studium oxidace aduktu vzniklého redukcí uhlí kovovým draslíkem²⁴ provedenou s cílem zvýšit obsah rozpustných organických složek v uhlí. I zde draslík usnadňuje oxidaci uhlí vzdušným kyslíkem, přičemž KO_2 je navržen jako meziprodukt reakce.

Známymi katalyzátory oxidačních reakcí organických látek jsou sloučeniny přechodných kovů. Pokud jde o vliv různých kovových solí na oxidaci hnědého uhlí²⁵, největší vliv vykazovaly soli měďnaté. Již v minimálním množství (0,4 mmol $\text{Cu}^{2+} \text{ g}^{-1}$) způsobují značné zvýšení reaktivity a snížení teploty hoření o 125 K. Žádný výrazný vliv aniontů nebyl pozorován.

Široká skupina solí kovů byla z hlediska jejich katalytického efektu na oxidaci polokoxu z pyrolýzy odpadních plastů zkoumána Molinem a Parejou²⁶. Nejsilnější katalytický účinek byl pozorován u solí sodných a měďnatých. Při sledování vlivu aniontů v sodných solích vykazovaly největší aktivitu octan sodný a hydroxid sodný, menší vliv pak měly uhličitan a dusičnan sodný. Chlorid sodný měl inhibiční účinek, který se projevil při teplotách nad 800 K. Dihydrogenfosforečnan sodný se při nižších teplotách projevoval jako inhibitor, při vyšších teplotách pak překvapivě reakci urychloval.

Katalytický účinek na oxidaci uhlí a koxu mají i mnohé oxidy kovů. Silný vliv oxidu olovnatého na oxidaci koxu²⁷ lze přičíst tomu, že v jeho přítomnosti dochází ke snížení aktivační energie oxidace. Podobně byl prokázán katalytický vliv aditiv (směs MgO , Fe_2O_3 , MnO , Al_2O_3 , SiO_2 a B_2O_3) na oxidaci uhlí a grafitu²⁸. Pokus o posouzení vlivu aditiv na kinetické parametry procesu neposkytl příliš věrohodné výsledky (např. reakční řád oxidace grafitu vzhledem k uhlíku $n_c = 6$).

Často používanými katalyzátory dehydrogenačních i hydrogenačních reakcí jsou Lewisovy kyseliny (např. ZnCl_2 , AlCl_3). Při studiu chloridu železitého jako katalyzátoru pyrolýzy černouhelné smoly při výrobě sorbentů na bázi aktivního uhlí²⁹ byl v rámci vysvětlení mechanismu jeho působení zdůrazněn význam schopnosti soli přejít do kapalného nebo plynného stavu před vlastním začátkem pyrolýzy.

Katalytický vliv iontů d- (Fe, Zn, Ni) i p-prvků (Sn, Pb) na hydrogenační zkapalňování uhlí byl prokázán již v práci Rogerse³⁰.

V poslední době se objevují práce, které poukazují na souvislost katalytické aktivity při oxidačně dehydrogenačních reakcích s acidobazickými vlastnostmi látek (např. cit.³¹).

3.3. Vliv katalyzátorů na oxidaci grafitu a sazí

Grafit a saze (mikrokryсталická forma grafitu) jsou téměř ideálními materiály pro studium katalytických efektů. Struktura grafitu je dobře popsána a umožňuje matematické mode-

lování procesů probíhajících na jeho povrchu (např. cit.⁷), včetně zahrnutí vlivu cizích atomů. Ukázkou teoretického matematického pohledu na interakci grafitu s jinými prvky je studie³², ve které autoři na základě modelování odůvodnili inhibiční vliv boru při oxidaci grafitu.

Přes tuto zdánlivou jednoduchost materiálu a přístupnost modelování jeho vlastností nebyla dosud zpracována obecná teorie o mechanismu katalytického působení kovů na oxidaci grafitických materiálů, která by dokázala vysvětlit všechny experimentálně pozorované vlivy. Důvod této absence zřejmě není v problémech se strukturou grafitu, ale v různorodosti používaných katalyzátorů. Pokud omezíme úvahy na katalyzátory na bázi anorganických sloučenin, pak jejich katalytický vliv je ovlivněn minimálně následujícími skutečnostmi:

- vlastnostmi kationtů (druh, oxidační číslo, vaznost a prostorové uspořádání vazeb),
- vlastnostmi aniontů příp. elektroneutrálních ligandů (druh, počet, oxidačně redukční vlastnosti),
- vlastnostmi sloučeniny jako celku (teplota tání, varu nebo rozkladu, možnost sublimace, acidobazické vlastnosti, polarita vazeb),
- vlastnostmi produktů vzniklých termickým rozkladem katalyzátoru nebo jeho interakcí s uhlíkem.

Při vlastním experimentálním studiu se k nim přidávají vlivy způsobené uspořádáním experimentu:

- způsobem aplikace (impregnace, adsorpce, mechanické mísení),
- množstvím katalyzátoru (publikovaná data pokrývají rozsah od stopových množství až po výrazný přebytek katalyzátoru),
- oxidačním prostředím a jeho parametry (vzduch, kyslík, vodní pára, CO_2 , oxidace v roztoku nebo tavenině, ...),
- obecným experimentálním uspořádáním (izotermické či neizotermické měření, celkové množství oxidované směsi, ředění inertním materiálem, ...).

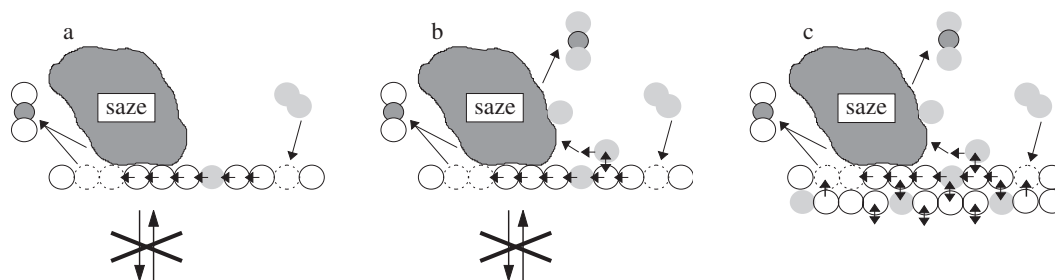
Pokusy vysvětlit mechanismus katalyzované oxidace grafitu nebo sazí se obvykle omezují na úzkou skupinu katalyzátorů.

Na atomární úrovni (elektronovou mikroskopií) byl sledován vliv kovových katalyzátorů na oxidaci vysoce uspořádaného pyrolytického grafitu³³. Autoři bombardovali povrch grafitu cesnými ionty a pozorovali vznik důlků ve vrchních vrstvách grafitu během oxidace kyslíkem. Zjistili, že oxidace vrstev začíná právě v okolí kladně nabitých iontů cesia, což připsali zvýšení hustoty π -elektronů, které jsou kladným iontem přitahovány. Místa se zvýšenou elektronovou hustotou umožňují snadnější adsorpci a následnou disociaci molekul kyslíku.

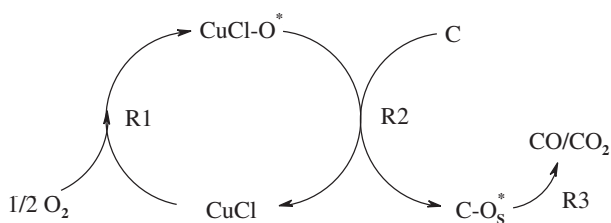
Při studiu vlivu oxidů vanadu, železa a olova na oxidaci grafitu¹⁰ byl největší katalytický efekt pozorován s V_2O_5 , největší změnu aktivační energie oxidace však způsobil PbO . Autoři předpokládají, že V_2O_5 pouze urychluje reakci, zatímco PbO mění zásadně reakční cestu. Přesto pro vliv obou oxidů navrhuje podobné mechanismy založené na vzniku vazeb kov–kyslík–uhlík, kde kovový oxid působí jako přenašeč kyslíku. Výraznější katalytický vliv oxidu železitého nebyl pozorován.

Vliv řady kovových oxidů na oxidaci sazí byl sledován pomocí izotopicky značeného kyslíku³⁴. Studium vedlo k návrhu tří typů mechanismu oxidace sazí v přítomnosti oxidů kovů (obr. 2).

Experimentálně bylo prokázáno, že na oxidaci sazí se



Obr. 2. Mechanismy oxidace sazí na povrchu oxidového katalyzátoru³⁴; ○ mezeru v kryst. mřížce, ○ kyslík – kryst. mřížka oxidu, ○ kyslík – atmosféra, ● uhlík



Obr. 3. Mechanismus katalytického působení CuCl (převzato z cit.³⁶)

v případě Fe_2O_3 a Co_3O_4 podílí především kyslík vázaný v pohyblivé povrchové vrstvě oxidu (obr. 2a). Na rozhraní saze–katalyzátor dochází k vlastní reakci, vzniká CO/CO_2 a v povrchové vrstvě katalyzátoru vznikají mezery. Tyto mezery jsou pak zaplněny kyslíkem z plynné fáze, jehož přítomnost je pro tento mechanismus nutná.

Při oxidaci sazí v přítomnosti Cr_2O_3 se uplatňuje i kyslík adsorbovaný na povrchu katalyzátoru, který není součástí krystalové mřížky oxidu (obr. 2 b). Tento kyslík přechází z povrchu oxidu na povrch sazí za vzniku povrchových kyslíkatých sloučenin uvolňujících se pak ve formě CO nebo CO_2 .

U oxidů MoO_3 , V_2O_5 a směsného K_2MoO_4 byl zjištěn stejný mechanismus jako u Cr_2O_3 doplněný o možnost výměny kyslíkových atomů mezi povrchovou vrstvou a vnitřním objemem katalyzátoru (obr. 2c). Tento mechanismus může jako jediný probíhat i bez přítomnosti kyslíku v plynné fázi a představuje karboredukci oxidu.

Rozsáhlé studium katalyzátorů pro spalování sazí vznikajících v dieslových motorech bylo provedeno Moulignem se spolupracovníky^{35–39}. Z výsledků získaných pro oxidy kovů³⁵ vyplývá důležitost těsného kontaktu mezi katalyzátorem a sazí (podrobná analýza viz cit.³⁷). Při dostatečném styku vykazuje katalytické účinky většina oxidů kovů. Při jeho ztrátě si však katalytickou aktivitu zachovávají pouze oxidy, u kterých je umožněna mobilita při teplotách oxidace (tání, sublimace nebo var samotných oxidů nebo produktů jejich reakce s uhlíkem nebo vlhkostí). Při zachování kontaktu bylo stanoveno následující pořadí oxidů podle klesajícího katalytického účinku: PbO , Co_3O_4 , V_2O_5 , MoO_3 , Fe_2O_3 , La_2O_3 , MnO_2 , Sb_2O_3 , Bi_2O_3 , CaO , CuO , Ag_2O , NiO a Cr_2O_3 . Při rozšíření studia na chloridy a chlorid-oxidy kovů³⁶ se ukázalo, že přítomnost chloru silně zvyšuje katalytickou aktivitu ve srovnání s oxidy, přestože chlor je známým inhibátorem hoření. Mezi chloridy a chlorid-oxidy vynikaly svou katalytickou aktivitou sloučeniny mědné, měďnaté a olovnaté. U sloučenin mědi

bylo prokázáno, že účinnou látkou je ve všech případech chlorid mědný, na který jsou během oxidace ostatní látky převedeny. Předpokládaný mechanismus působení CuCl při oxidaci uhlíku je na obr. 3.

Prvním krokem oxidace v přítomnosti CuCl je aktivace kyslíku na povrchu CuCl (obr. 3 – reakce R1). Aktivovaný kyslík je přenesen na povrch sazí (obr. 3 – R2) za vzniku povrchových kyslíkatých sloučenin $\text{C}-\text{O}_s^*$. Jejich rozpadem se uvolňuje CO a CO_2 (obr. 3 – R3).

Pro sloučeniny olova žádný podobný společný faktor nalezen nebyl. Při testování³⁸ katalyzátorů na bázi chloridů mědi na oxidových nosičích však bylo zjištěno, že tyto komplexy díky těkavosti chloridů rychle ztrácejí část své aktivity. Vzhledem k předpokládané souvislosti aktivity katalyzátoru s jeho mobilitou při teplotách oxidace byly studovány eutektické směsi solí s oxidy³⁹. Směsi $\text{Cs}_2\text{MoO}_4-\text{V}_2\text{O}_5$ a $\text{CsVO}_3-\text{MoO}_3$ vykazovaly vysokou katalytickou aktivitu při teplotách převyšujících jejich teplotou tání. Na druhou stranu směs KVO_3-KCl silně ovlivňovala oxidaci sazí i pod teplotou tání.

Kritický pohled na použití katalyzátorů obsahujících chlor z hlediska vzniku polychlorovaných aromatických sloučenin byl zveřejněn Luijkem a spolupracovníky⁴⁰. Měď se chová jako katalyzátor nejen oxidačních, ale i chloračních reakcí, čímž přispívá ke vzniku stabilních chlorovaných polyaromatických fragmentů. Ty jsou prekursory polychlorovaných aromatických sloučenin v plynných produktech.

4. Závěr

Z uvedeného přehledu je zřejmá komplexnost problematiky katalytické oxidace uhlíkatých materiálů a široké možnosti volby přístupů k jejímu řešení. Nezodpovězené otázky leží v celé oblasti popsaného problému, od relativně jednoduché oxidace grafitu až po mechanismus působení katalyzátorů při oxidačních nebo pyrolytických reakcích.

Současné metody umožňují studium oxidace čistých uhlíkatých látek zaměřit na popis interakce kyslíku s povrchem uhlíkatého materiálu na atomární úrovni. V této oblasti přináší zajímavé výsledky i matematické modelování oxidačních procesů.

Výzkum aditiv používaných při energetickém využití fosilních paliv se zaměřuje na hledání látek umožňujících snížit teplotu hoření při současném dokonalém spálení paliva a snížit obsah oxidu siřičitého a oxidů dusíku v plynných produktech.

Významným směrem je studium katalyzátorů usnadňujících oxidaci sazí a jiných forem pyrolyzního uhlíku s cílem

nalézt katalyzátor s dostatečnou a přitom dlouhodobou účinností.

Značná část prací se v současnosti věnuje i studiu interakce uhlíkatých materiálů s oxidy kovů. To má význam nejen v oblasti katalytické oxidace uhlíkatých látek, ale i pro pochopení mechanismu redukce těchto oxidů uhlíkem.

Obecné pochopení interakce mezi organickými a anorganickými složkami v průběhu oxidace má klíčový význam pro ekonomicky a ekologicky přijatelné využívání přírodních surovin stejně jako pro zpracování široké skupiny odpadů. Nezanedbatelné jsou i možnosti v oblasti přípravy nových technických materiálů.

Tato práce vznikla za podpory Grantové Agentury ČR, číslo projektu 105/00/1698.

LITERATURA

- Kennedy I. M.: Prog. Energy Combust. Sci. 23, 95 (1997).
- Schlogl R., Loose G., Wesemann M.: Solid State Ionics 43, 183 (1990).
- Cascarini de Torre L. E., Llanos J. L., Bottani E. J.: Carbon 29, 1051 (1991).
- Lee S. M., Lee Y. H., Hwang Y. G., Hahn J. R., Kang H.: Phys. Rev. Lett. 82, 217 (1999).
- Hahn J. R., Kang H., Lee S. M., Lee Y. H.: J. Phys. Chem. B 103, 9944 (1999).
- Hahn J. R., Kang H.: J. Vac. Sci. Technol., A 17, 1606 (1999).
- Stevens F., Beebe T. P.: Comput. Chem. 23, 175 (1999).
- Joshi A., Nimmagadda R., Herrington J.: J. Vac. Sci. Technol., A 8, 2137 (1990).
- Gilot P., Bonnefoy F., Marcuccilli F., Prado G.: Combust. Flame 95, 87 (1993).
- Allen G. C., Paul M.: J. Chem. Soc., Faraday Trans. 91, 3717 (1995).
- Neeft J. P. A., Nijhuis T. X., Smakman E., Makkee M., Moulijn J. A.: Fuel 76, 1129 (1997).
- Slovák V., Kříž V.: Sborník mezinárodní konference k 85. výročí narození prof. Josefa Příbyla, DrSc., Beskydy 2000, str. 67.
- Vassilev S. V., Kitani K., Vassileva C. G.: Fuel 75, 1537 (1996).
- Pusz S., Krzton A., Komraus J. L., Martinez-Tarazona M. R., Martinez-Alonzo A., Tascon J. M. D.: Int. J. Coal Geol. 33, 369 (1997).
- Leško J., Slovák V., Roubíček V.: Sborník konference Aprochem 98, Milovy 1998, str. 414.
- Moljord K., Magnoux P., Guisnet M.: Catal. Lett. 28, 53 (1994).
- Shirazi A. R., Bortin O., Lindqvist O.: Fuel 74, 247 (1995).
- Atal A., Steciak J., Levendis Y. A.: Fuel 74, 495 (1995).
- Gopalakrishnan R., Fullwood M. J., Bartholomew C. H.: Energy Fuels 8, 984 (1994).
- Serageldin M. A., Pan W.-P.: Thermochim. Acta 76, 145 (1984).
- Wagner R., Muhlen H.-J.: Fuel 68, 251 (1989).
- Schumacher W., Muhlen H.-J., van Heek K. H., Juntgen H.: Fuel 65, 1360 (1986).
- Lee S., Shon E., Park S.: Proceedings 12th Annual Pittsburgh Coal Conference, Pittsburg 1995, str. 499.
- Nosyrev I. E., Stefanova M., Marinov S., Lazarov L.: Khim. Tverd. Top. 26, 57 (1992).
- Pong T. K., Harris I. J.: J. Inst. Energy, 383 (1984).
- Molina S., Pareja P.: Waste Manage. 14, 531 (1994).
- Vallová S., Slovák V., Leško J.: Sborník 27. mezinárodní konference SSCHI, Tatranské Matliare 2000.
- Zhang L.-M., Tan Z.-C., Wang S.-D., Wu D.-Y.: Thermochim. Acta 299, 13 (1997).
- Boudou J. P., Begin D., Alain E., Furdin G., Mareche J. F., Albinak A.: Fuel 77, 601 (1998).
- Rogers D. E.: Fuel 63, 1610 (1984).
- Moriceau P., Lebouteiller A., Bordes E., Courtine P.: Phys. Chem. Chem. Phys. 1, 5735 (1999).
- Wang Q., Ma X.-L., Chen L.-Q., Cermignani W., Pantano C. G.: Carbon 35, 307 (1997).
- Hahn J. R.: Surf. Sci. 423, L216 (1999).
- Mul G., Kapteijn F., Doornkamp C., Moulijn J. A.: J. Catal. 179, 258 (1998).
- Neeft J. P. A., Makkee M., Moulijn J. A.: Appl. Catal., B 8, 57 (1996).
- Mul G., Kapteijn F., Moulijn J. A.: Appl. Catal., B 12, 33 (1997).
- Neeft J. P. A., van Pruijsen O. P., Makkee M., Moulijn J. A.: Appl. Catal., B 12, 21 (1997).
- Neeft J. P. A., Schipper W., Mul G., Makkee M., Moulijn J. A.: Appl. Catal., B 11, 365 (1997).
- Jelles S. J., van Setten B. A. A. L., Makkee M., Moulijn J. A.: Appl. Catal., B 21, 35 (1999).
- Luijk R., Dorland C., Kapteijn F., Govers H. A. J.: Fuel 72, 343 (1993).

V. Slovák (Department of Chemistry, Technical University of Ostrava, Ostrava-Poruba): **Catalytic Oxidation of Carbonaceous Materials**

The current research on oxidation of carbonaceous materials is primarily aimed at detailed understanding the mechanism of interaction of carbon with oxygen and at studies of the influence of inorganic substances on the process. Oxidation of graphite as a model compound with oxygen is a complex process, the interpretation of which is still contradictory, above all in the field of an influence of structure arrangement on the oxidation reactivity. Studies of soot oxidation has been recently focused on determination of the process kinetics and searching for substances lowering the soot combustion temperature. As catalysts, oxides and inorganic salts of metals are investigated. The study of catalytic oxidation of coal and coke, containing both organic and inorganic substances, is complicated. The research is aimed at common substances in ashes and at substances used as additives to coal and coke used as energy sources. Attention is also paid to coal pyrolysis and its potential affecting by various catalysts.

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

POROVNÁNÍ SLABÝCH EXTRAKČNÍCH ČINIDEL PRO STANOVENÍ ROSTLINOU PŘIJATELNÉHO PODÍLU As, Cd a Zn V PŮDĚ

JIŘINA SZÁKOVÁ, PAVEL TLUSTOŠ,
JIŘÍ BALÍK, DANIELA PAVLÍKOVÁ
a MILUŠE BALÍKOVÁ

Katedra agrochemie a výživy rostlin, Česká zemědělská univerzita Praha, 165 21 Praha 6, e-mail: SZAKOVA@AF.CZU.CZ

Došlo dne 5.VIII.1999

Klíčová slova: As, Cd, Zn, půda, slabá extrakční činidla, rostlinou přijatelný obsah prvku

Úvod

Půda představuje velmi složitý komplex organických a anorganických sloučenin tvořících jedinečný vzájemně provázaný celek, který je významnou a nenahraditelnou součástí biosféry. Pro posouzení možných interakcí prvků obsažených v půdě s dalšími složkami životního prostředí je informace o celkovém obsahu těchto prvků jen málo obsažná. Pro získání podrobnějších informací o distribuci prvků v jednotlivých komponentech půdy a o způsobu a pevnosti vazeb prvků na tyto komponenty byla vyvinuta celá řada extrakčních činidel. Některá z těchto činidel mohou být specifická pro určitý prvek či studovanou plodinu¹. Volba chemické sloučeniny použité pro extrakci se pak řídí požadavkem, která frakce prvku má být z dané půdy uvolněna.

Velmi detailní přehled používaných extraktantů a možností jejich aplikace publikoval Beckett². Tato práce zároveň

dokumentuje nesmírnou pestrost škály extrakčních činidel, jež vyplynula ze specifických požadavků analytických pracovišť na řešení konkrétních problémů. Jen v případě EDTA je v práci Becketta² citováno více než 20 extrakčních postupů lišících se koncentrací vyluhovaadla, teplotou či pH extrakčního roztoku. Rozdílnost analytických postupů však velmi ztěžuje vzájemné porovnání výsledků jednotlivých pracovišť, k čemuž přistupuje i omezená možnost kontroly kvality analytických dat vzhledem k neexistenci certifikovaných referenčních materiálů půd se známým obsahem extrahovatelných frakcí jednotlivých kovů³.

V našich dříve publikovaných pracích jsme studovali možnosti použití vybraných extrakčních postupů pro stanovení As (cit.⁴), Cd a Zn (cit.⁵). Ze závěrů obou těchto prací vyplynula jak nutnost rozšíření počtu analyzovaných půdních vzorků, tak i škály testovaných extrahovadel. V této práci jsme se zejména zaměřili na využití slabých roztoků neutrálních solí, které více či méně simulují složení půdního roztoku a mohou tedy z půdy uvolnit tu část celkového obsahu prvku, která je přístupná rostlinám.

Materiál a metody

Byl vybrán soubor 35 vzorků půd reprezentujících rozmanitost fyzikálně-chemických vlastností půd na území České republiky. Do výběru vzorků byly vedle lokalit představujících běžnou hladinu obsahů sledovaných prvků v daných typech půd úmyslně zařazeny i vzorky z lokalit s významenou zvýšenou hladinou zejména As a Cd, a to jak působením geogenních, tak i antropogenních vlivů. Vybrané charakteristiky těchto půd shrnuje tabulka I. Laboratorní půdní vzorky z jednotlivých lokalit byly zhomogenizovány, usušeny při laboratorní teplotě a přesáty přes plastové síto o velikosti ok 2 mm. Takto připravené vzorky byly použity pro stanovení celkových i extrahovatelných obsahů sledovaných prvků.

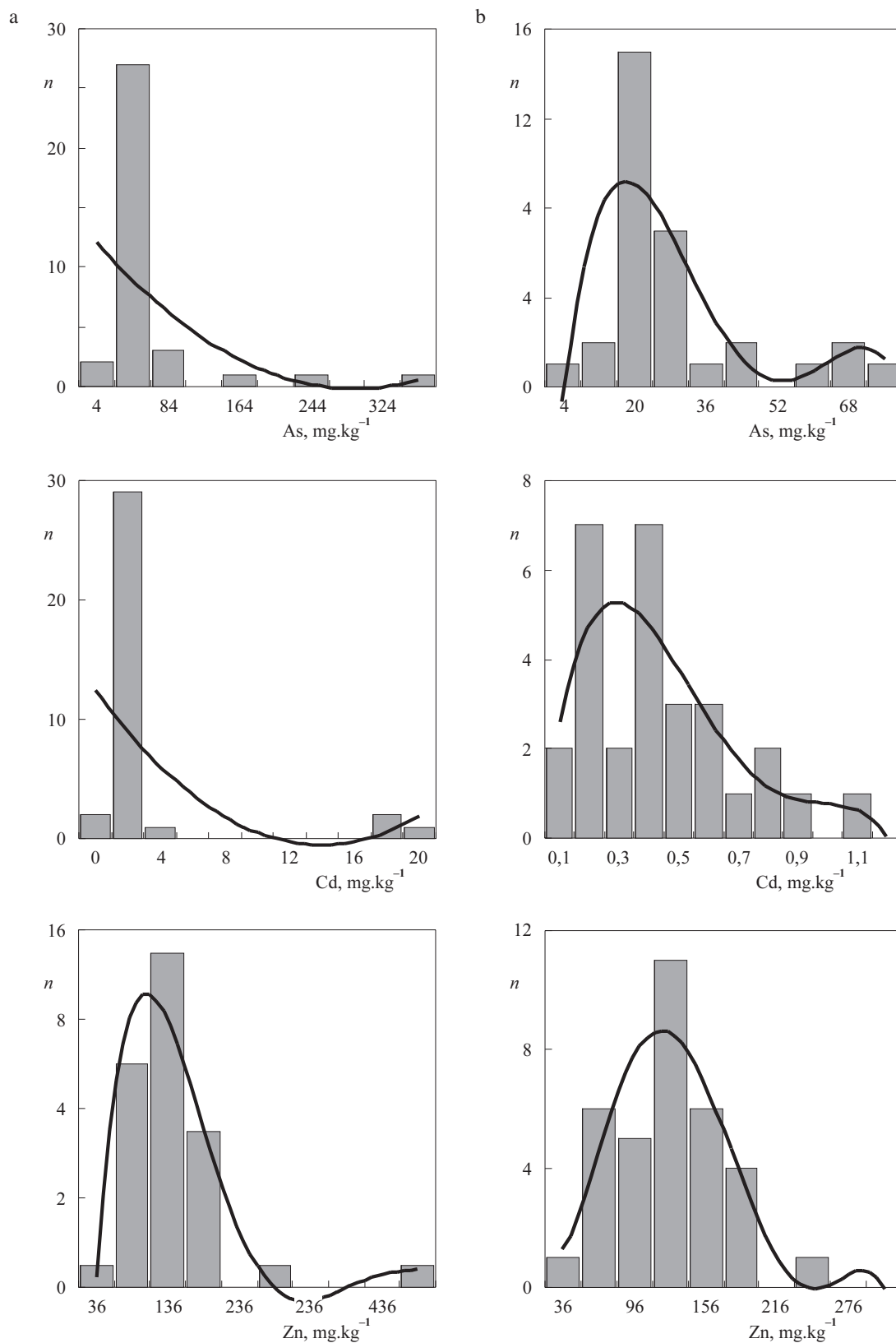
Použitá extrakční postupy: Extrakce H₂O: Vzorek půdy byl extrahován deionizovanou vodou v poměru 1:5 (w/v) při teplotě místnosti následovně: 5,0 g vzorku půdy bylo naváženo do 100 ml plastové lahvičky a zalito 25 ml H₂O. Reakční

Tabulka I

Vybrané charakteristiky testovaných půd

Parametry	pH	C _{ox} ^a [%]	KVK ^b [mval.kg ⁻¹]	Jílнатé částice [%]	Celk. As [mg.kg ⁻¹]	Celk. Cd [mg.kg ⁻¹]	Celk. Zn [mg.kg ⁻¹]
Arit. průměr	6,2	2,26	187	20,8	43,3	2,06	119
Medián	6,5	2,00	188	22,0	20,1	0,39	109
Směrod. odchylka	0,9	1,25	55	8,4	70,8	5,1	74
Minimum	3,6	0,70	89	10	4,4	0,11	35,8
Maximum	7,3	6,67	292	48	352	19,4	451

^a Obsah oxidovatelného uhlíku, ^b kationtová výměnná kapacita



Obr. 1. **Histogramy rozdělení četnosti celkových obsahů As, Cd a Zn ve sledovaných půdních vzorcích.** Sloupec a udává rozdělení celého souboru půd, sloupec b pak rozdělení souboru po vyloučení extrémních hodnot pro jednotlivé prvky

Tabulka II

Základní statistické charakteristiky souboru dat relativních extrahovatelných obsahů prvků v půdách dle jednotlivých vyluhovadel (% z celkového obsahu)

Arsen	1 mol.l ⁻¹ NH ₄ NO ₃	0,1 mol.l ⁻¹ NaNO ₃	0,01 mol.l ⁻¹ CaCl ₂	H ₂ O	0,5 mol.l ⁻¹ NaHCO ₃
Arit. průměr	0,088	0,145	0,277	0,424	1,46
Medián	0,053	0,086	0,198	0,310	0,777
Směrod. odchylka	0,086	0,166	0,255	0,358	1,66
Minimum	0,008	0,003	0,017	0,059	0,040
Maximum	0,364	0,659	1,22	1,45	7,12
Kadmium	H ₂ O	0,1 mol.l ⁻¹ NaNO ₃	1 mol.l ⁻¹ NH ₄ NO ₃	0,01 mol.l ⁻¹ CaCl ₂	0,5 mol.l ⁻¹ NaHCO ₃
Arit. průměr	1,08	0,788	3,02	5,33	7,76
Medián	0,546	0,341	0,818	2,18	3,98
Směrod. odchylka	1,39	1,63	5,98	8,78	10,3
Minimum	0,064	0,033	0,152	0,270	0,190
Maximum	6,30	9,74	31,6	47,0	45,4
Zinek	H ₂ O	0,1 mol.l ⁻¹ NaNO ₃	0,5 mol.l ⁻¹ NaHCO ₃	1 mol.l ⁻¹ NH ₄ NO ₃	0,01 mol.l ⁻¹ CaCl ₂
Arit. průměr	0,067	0,154	0,242	0,603	0,718
Medián	0,047	0,020	0,176	0,098	0,128
Směrod. odchylka	0,062	0,402	0,254	1,52	1,44
Minimum	0,006	0,001	0,031	0,001	0,025
Maximum	0,234	2,14	1,24	8,47	6,74

směs byla mechanicky protřepávána po dobu 30 minut, poté byla směs ponechána 16 hodin v klidu při teplotě místnosti, následně byla opět protřepávána po dobu 5 minut a poté centrifugována po dobu 15 minut při 3000 otáčkách (Hettich Universal 30 RF). Supernatant byl bezprostředně analyzován⁶. Další použité metody extrakce půd byly již podrobně popsány v naší předchozí práci⁴, včetně literárních zdrojů, proto na tomto místě uvádíme jen jejich stručnou charakteristiku: 1. extrakce 0,01 mol.l⁻¹ roztokem CaCl₂ v poměru 1:10 (w/v), 2. extrakce 1 mol.l⁻¹ roztokem NH₄NO₃ v poměru 1:2,5 (w/v), 3. extrakce roztokem 0,1 mol.l⁻¹ roztokem NaNO₃ v poměru 1:2,5 (w/v), 4. extrakce 0,5 mol.l⁻¹ roztokem NaHCO₃ v poměru 1:20 (w/v).

Celkový obsah prvků v půdách byl stanoven v mineralizátech získaných předchozím dvoustupňovým rozkladem s přítomností HF v jeho mokré fázi podle následujícího postupu: 0,5 g vzorku půdy bylo spáleno na suché cestě ve směsi superoxidačních plynů v přístroji APION při teplotě 400 °C po dobu 10 hodin. Pevný zbytek po suchém rozkladu byl rozložen ve směsi HF konc. + HNO₃ konc. (1 + 2) na teflonové horké desce v teflonových kádinkách při 150 °C. Odparek byl rozpuštěn ve zředěné lučavce královské a uložen v kalibrovaných zkumavkách při teplotě místnosti až do doby měření⁷.

Obsah prvků v roztocích byl stanoven metodou atomové absorpční spektrometrie na přístrojích Varian SpectraAA-300 a Varian SpectraAA-400. Obsah arsenu byl stanoven technikou generace hydridů s využitím kontinuálního generátoru hydridů VGA-76, pro stanovení Cd pak byl použit grafitový bezplamenový atomizátor GTA-96 a Zn byl atomizován v plameni acetylen-vzduch. Pro vyhodnocení signálu bylo použito metody standardního přídatku.

Pro kontrolu správnosti výsledků byl využit certifikovaný referenční materiál RM 7003 Silty Clay Loam s následujícím výsledkem: V materiálu obsahujícím 16,7±3,1 mg As.kg⁻¹, 0,32±0,04 mg Cd.kg⁻¹ a 81,0±7,6 mg Zn.kg⁻¹ bylo nalezeno 19,0±2,0 mg As.kg⁻¹, 0,34±0,08 mg Cd.kg⁻¹ a 78,2±4,8 mg Zn.kg⁻¹.

Výsledky a diskuse

Z tabulky I vyplývá, že celkové obsahy sledovaných prvků se pohybovaly ve velmi širokém rozmezí s výskytem extrémně vysokých hodnot, zejména As a Cd. Na obrázku 1 je vidět, že rozdělení četností hodnot celkového obsahu prvků v půdách neodpovídá parametrům normálního rozdělení, a to ani po vyloučení statisticky odlehých hodnot. Pro další hodnocení

byl proto zvolen median jako hodnota lépe reprezentující studovaný soubor vzorků. Hodnoty medianu nepřekročily maximálně přípustné obsahy prvků v půdách ČR⁸, které představují pro arsen 30 mg.kg⁻¹, pro Cd a Zn pak dle typu půdy 0,4–1,0 resp. 130–200 mg.kg⁻¹. Median byl posléze vybrán i pro hodnocení souborů dat extrahovatelných obsahů jednotlivých prvků. Jak už bylo řečeno výše, nejednalo se o náhodný výběr půdních vzorků, ale půdy s extrémními obsahy prvků byly vybírány záměrně. V případě kadmia se pak podařilo shromáždit půdní vzorky zahrnující oba extrémy, tj. vzorky reprezentující půdy s velmi nízkými i velmi vysokými obsahy tohoto prvku, přičemž 20 % vzorků překročilo maximálně přípustné hodnoty celkového obsahu tohoto prvku v půdách. U arsenu a zinku se pak vyskytly vzorky blížící se horní hranici maximálně přípustných hodnot obsahů těchto prvků, a k jejich překročení došlo v 26 resp. 6 % vzorků.

Je zřejmé, že dominantní vliv na koncentraci prvků v půdních extraktech měl celkový obsah prvků v zeminách, jehož rozpětí významně převyšovalo rozpětí ostatních sledovaných půdních parametrů (tabulka I). Relativní vyjádření hodnot vztahených k celkovému obsahu prvků v půdě, uvedené v tabulce II, umožnilo v tomto případě lepší porovnání jednotlivých metod.

Výsledky ukázaly, že použití deionizované vody a neutrálních solí vedlo přes některé odlišnosti k vzájemně porovnatelným výsledkům jak ve vlastní extrahovatelnosti jednotlivých prvků, tak i při další interpretaci dat. Tato činidla jsou schopna uvolnit pouze slabě vázané, rostlinám snadno přístupné podíly půdních elementů¹⁻². U řady výsledků se naměřené hodnoty pohybovaly na hranici meze detekce, což vedlo ke zvýšení nejistoty stanovení.

U arsenu a zinku nepřesáhly vyluhovatelné obsahy prvků 0,5 % jejich celkového obsahu v půdě, ale byly pozorovány rozdíly v jejich účinnosti. U arsenu se účinnost extrakce zvyšovala v pořadí 1 mol.l⁻¹ NH₄NO₃ < 0,1 mol.l⁻¹ NaNO₃ < 0,01 mol.l⁻¹ CaCl₂ < H₂O a potvrdilo se, že vyšší iontová síla použitého vyluhovadla snižuje rozpustnost slabě vázaných forem tohoto prvku. Je také třeba mít na zřeteli, že většina běžně používaných činidel byla vyvinuta pro extrakci prvků vázaných v půdě ve formě dvojmocných kationtů a nemusí být vždy aplikovatelná pro prvky tvořící jiné typy vazeb. Obsah zinku v extraktu se zvyšoval v pořadí 0,1 mol.l⁻¹ NaNO₃ < H₂O < 1 mol.l⁻¹ NH₄NO₃ < 0,01 mol.l⁻¹ CaCl₂. V případě kadmia kopíruje pořadí extraktantů řadu sestavenou pro zinek, ale extrahovatelnost tohoto prvku byla významně vyšší ve srovnání se zinkem. Rovněž rozpětí hodnot pro jednotlivé vzorky bylo významně širší, přičemž v některých případech se obsahy Cd extrahovatelné chloridem vápenatým blížily 50 % celkovému obsahu prvku (tabulka II).

Ze vzájemného srovnání extrahovatelných obsahů prvků s některými půdními charakteristikami vyplynul zřetelný vliv půdních vlastností na mobilitu sledovaných prvků. Lineární regresní analýza ukázala statisticky významný pokles obsahů Cd a Zn v extraktech (s výjimkou obsahu Cd ve vodním výluhu) při zvyšujícím se pH půdy. Korelační koeficienty se v tomto případě pohybovaly v rozmezí -0,5 až -0,7 ($\alpha = 0,05$). Ostatní sledované vlastnosti extrahovatelnost těchto prvků významně neovlivnily. Přestože literatura uvádí zvýšenou mobilitu As při extrémně nízkých hodnotách půdní reakce⁹ (pH < 5), v našem experimentu pH půdy vyluhovatelnost arsenu slabými činidly významně nezměnilo. Byl však zazna-

menán trend ke snížení mobility arsenu při zvyšujících se hodnotách dalších půdních parametrů, tedy kationtové výměnné kapacity, obsahu organických látek a obsahu jílnatých částic. Statisticky významné korelační koeficienty v rozmezí -0,36 až -0,46 byly stanoveny regresní analýzou při hodnocení vztahu obsahu oxidovatelného uhlíku v půdě a podílu arsenu uvolněného slabými vyluhovadly.

Stejný soubor 35 půd byl využit v nádobovém vegetačním pokusu, kdy byla zjištěna dobrá korelace obsahů As a Cd v rostlinách ředkvičky a špenátu s obsahy těchto prvků extrahovatelnými roztoky neutrálních solí. Výsledky byly již publikovány na jiném místě¹⁰. Ve shodě s literaturou¹⁻² lze tedy shrnout, že tato činidla jsou vhodná pro studium transportu prvků z půdy do rostlin. Chlorid vápenatý, který se svým složením nejvíce podobá půdnímu roztoku a je schopen uvolnit relativně vysoké, tedy snadněji stanovitelné, obsahy sledovaných prvků, se pak jeví jako nevhodnější.

0,5 mol.l⁻¹ roztok NaHCO₃ při pH 8,5 je činidlem vyvinutým původně pro extrakci fosfátových iontů z půdy. U zinku byla jeho extrahovatelnost srovnatelná s roztoky neutrálních solí, u Cd a zejména As pak vyšší (tabulka II). Nebyl však nalezen žádný průkazný vztah s ostatními použitými extraktanty, hodnocenými půdními vlastnostmi či celkovým obsahem prvků. V případě arsenu pak nelze při vysokém pH roztoku vyloučit změnu mocenství z As^V na snadněji rozpustný As^{III}, jak je zmíněno v literatuře¹¹. Zdá se tedy, že hydrogenuhličitan sodný není vhodným extrakčním činidlem pro sledované prvky na daném souboru půd.

Závěr

Extrahovatelnost As, Cd a Zn z půdy se lišila podle jednotlivých prvků i podle použitých extrakčních činidel. V případě arsenu jeho uvolnitelnost klesala v pořadí NaHCO₃ > H₂O > CaCl₂ > NaNO₃ > NH₄NO₃. U kadmia a zinku bylo stanoveno následující sestupné pořadí extraktantů: NaHCO₃ > CaCl₂ > NH₄NO₃ > H₂O > NaNO₃. Roztoky neutrálních solí uvolňují z půdy frakce prvků přibližně odpovídající podílu prvků přijatelných rostlinami. Jsou tedy velmi vhodné při studiu přestupu prvků z půdy do rostlin. Z použitých roztoků se pak u všech tří prvků jevil 0,01 mol.l⁻¹ CaCl₂ jako nevhodnější pro tento účel.

Problematika byly řešena v rámci výzkumného záměru MŠMT ČR číslo CEZ:JO3/985 a interního výzkumného projektu ČZU číslo 204/10/25098/0.

LITERATURA

1. Ure A., Quevauviller P., Muntau H., Griepink B.: *BCR Information EUR 14763 EN*. Community Bureau of Science, Brussels 1993.
2. Beckett P. H. T.: *Adv. Soil Sci.* 9, 143 (1989).
3. Griepink B.: *J. Environ. Anal. Chem.* 51, 123 (1993).
4. Száková J., Tlustoš P., Pavlíková D., Balík J.: *Chem. Listy* 91, 580 (1997).
5. Tlustoš P., van Dijk D., Száková J., Pavlíková D.: *Rostl. Vyroba* 40, 1107 (1994).

6. Kiekens L., Cottenie A., v knize: *Chemical Methods for Assessing Bio-Available Metals in Sludges and Soils* (Leschber R., ed.), str. 42. Elsevier Applied Science, London 1985.
7. Mader P., Száková J., Miholová D.: *Analisis* 26, 121 (1998).
8. Beneš S.: *Obsahy a bilance prvků ve sférách životního prostředí*, I. část., str. 73. MZe ČR, Praha 1993.
9. O'Neill P., v knize: *Heavy Metals in Soils* (Alloway B. J., ed.). Wiley, New York 1990.
10. Száková J., Tlustoš P., Balík J., Pavlíková D., Balíková M.: *Biogeochemistry of Trace Elements, Vídeň 1999*. Sborník, str. 594.
11. Masscheleyn P. H., Delaune R. D., Patrick W. H.: *Environ. Sci. Technol.* 25, 1414 (1991).

J. Száková, P. Tlustoš, J. Balík, D. Pavlíková, and M. Balíková (*Department of Agrochemistry and Plant Nu-*

trition, Czech University of Agriculture, Prague): A Comparison of Suitability of Mild Extraction Procedures for Determination of Available Portion of As, Cd and Zn in Soil

Five extraction procedures were tested for the determination of extractable contents of As, Cd and Zn in thirty-five soils differing in their physicochemical properties and in element contents. The extractability from soils varied depending on the individual elements and the extraction agents used. The extractability of arsenic using various extractants decreased in the order $\text{NaHCO}_3 > \text{H}_2\text{O} > \text{CaCl}_2 > \text{NaNO}_3 > \text{NH}_4\text{NO}_3$. For cadmium and zinc, the order was: $\text{NaHCO}_3 > \text{CaCl}_2 > \text{NH}_4\text{NO}_3 > \text{H}_2\text{O} > \text{NaNO}_3$. Solutions of the neutral salts released approximately the amounts of the soil elements available to plants. For this reason, the extraction agents proved to be suitable for studying plant – soil relations. Of the solutions tested, 0.01 mol.l^{-1} CaCl_2 seems to be the most appropriate for the purpose.

VYUŽITÍ AKTIVNÍHO UHLÍ PRO VOLTAMETRICKOU ANALÝZU KYSELINY THIODIGLYKOLOVÉ V BIOLOGICKÉ MATRICI

ZDEŇKA DLASKOVÁ^a, LUCIE DVOŘÁKOVÁ^b,
TOMÁŠ NAVRÁTIL^{b,c} a PAVLÍNA BAŠOVÁ^b

^aKlinika nemocí z povolání, 1. LF UK, Na Bojišti 1, 128 00 Praha 2, ^bUNESCO Laboratoř elektrochemie životního prostředí, ^cÚstav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, Doletějškova 3, 182 23 Praha 8, e-mail: navratil@jh-inst.cas.cz

Došlo dne 1.X.1999

Klíčová slova: kyselina thiodiglykolová, vinylchlorid, voltametrie, aktivní uhlí

Úvod

Expozice vinylchloridu je v současné literatuře posuzována nejčastěji stanovením kyseliny thiodiglykolové (sulfanyldioctové) (KTG) plynovou chromatografií^{1,2}. KTG je jedním z hlavních metabolitů vinylchloridu a ve srovnání s dalšími metabolity, *S*-(karboxymethyl)-*L*-cysteinem a *N*-acetyl-*S*-(2-hydroxyethyl)-*L*-cysteinem, nejvíce koreluje s výší expozice vinylchloridu². Použití plynové chromatografie je vhodné pro velké laboratoře se sériovým stanovením vzorků. Ekonomičtější metodou v našich podmínkách by byla metoda polarografická, resp. voltametrická. Potenciální možnosti stanovení vinylchloridu a popř. dalších chlorovaných uhlovodíků s využitím polarografie byly naznačeny již např. v monografiích³. Počátek polarografické vlny se však nacházel při negativních potenciálech (v nevodném prostředí) v blízkosti rozkladu základního elektrolytu, takže ho bylo možno analyticky využít jen v omezeném koncentračním rozsahu. V současné době skýtají reálnou naději na stanovení KTG metody adsorpční voltametrie⁴⁻⁸, za vhodných podmínek katodického či anodického nahromadění silně adsorptivních látek^{4,9,10}. Zvláště citlivé jsou varianty využívající měření na obnovovaných rtuťových elektrodách, zejména v miniaturizovaných režimech¹¹⁻¹⁴. Využívá se přitom faktu, že organické látky obsahující síru vykazují na rtuťovém elektroodovém rozhraní silnou adsorpci až chemisorpci. Významnou roli hraje ovšem složení roztoku, resp. obsah dalších adsorptivních látek, které při měření ruší. Důležitou součástí řešení elektroanalytických postupů je pak nalezení vhodné metody úpravy vzorku.

Značný zájem je v klinické praxi o dosud nevyřešenou, levnou a dostupnou orientační diagnostiku hladiny KTG v moči, která by umožnila rychlé rozlišení vzorků kontaminovaných od vzorků nekontaminovaných; po něm by pak v případě kontaminovaných roztoků mohlo následovat složitější analytické (např. chromatografické) stanovení. Cílem tohoto sdělení je návrh postupu jednoduché předúpravy vzorku pro stanovení KTG v moči, pro orientační určení její hladiny, pod nebo nad stanovenou mezí.

Experimentální podmínky

Použité přístroje a metody

Pro měření bylo využito počítačového Eko-Tribo polarografického analyzátoru PC-ETP s příslušenstvím (POLARO-SENSORS, spol. s r. o., Praha), včetně příslušného software. Jako pracovní sloužila stacionární tužková rtuťová elektroda UM μ E, jako referentní 1 M argentochloridová a jako pomocná platinová elektroda. Záznamy byly prováděny metodou diferenční pulsní voltametrie (DPV) nahromaděním KTG po dobu $t_{ak} = 60$ s (za volné difuze) při výchozím (resp. klidovém) potenciálu $E_{vych} = E_{klid} = -250$ mV, tedy s využitím technik katodické rozpouštěcí voltametrie (CSV); konečný potenciál činil $E_{kon} = -1000$ mV, rychlost polarizace 20 mV \cdot s⁻¹ a výška pulsu -50 mV. Měření probíhala při pokojové teplotě 293 ± 1 K, s reprodukovatelností lepší než ± 5 %.

Použité roztoky

Analýzy byly prováděny ve vodných roztocích 0,1 M chloracetátového pufru (ClCH₂COOH + ClCH₂COONa) pH 2,5–2,8, v přítomnosti 0,01 M-CuSO₄; všechny použité chemikálie byly čistoty p.a.; základní i referenční roztoky byly připraveny z redestilované vody.

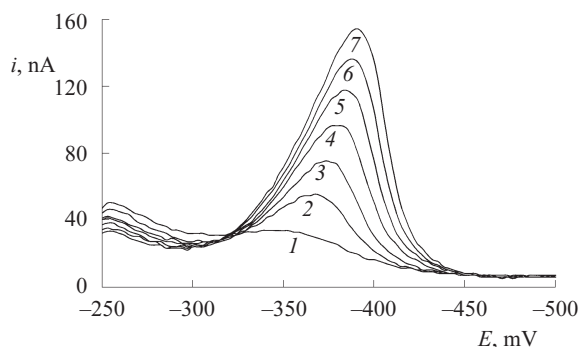
Výsledky a diskuse

Stanovení KTG bylo nejprve otestováno metodou přidávků standardního vodného roztoku KTG do 10 ml 0,1 M chloracetátového pufru s 0,01 M-CuSO₄, za výše uvedených experimentálních podmínek. Výška DPV signálu *i* ve tvaru píku (viz obr. 1) vykazovala reprodukovatelnost lepší než ± 1 % a jeho koncentrační závislost byla v uvedeném koncentračním rozsahu lineární.

Po té byla KTG přidávána do upravených vzorků moči a měření DPV/CSV byla opakována. Reprodukovatelnost průběhu *i-E* křivky se však v porovnání s obdobným měřením v čistém chloracetátovém pufru zhoršila, náběžná hrana píku i pozadí se zvýšily, poklesla citlivost stanovení a vyhodnocování *i-c* závislostí se stalo nespolehlivým. Výrazně též vzrostl vliv změn matrice vzorku a časového faktoru na výsledky měření. Pozitivních změn nebylo možno dosáhnout ani postupnými změnami parametrů, režimů a podmínek měření. Obdobný signál jako KTG poskytoval i cystein a cystin.

K výraznému zlepšení v reprodukovatelnosti výsledků vedl následující postup přípravy vzorku: 0,5 g aktivního uhlí bylo přidáno do 5 ml čerstvě rozmrazené moči. Směs byla protřepána a na papírovém filtru s modrou páskou přefiltrována. Celková doba filtrace činila 20 s; 0,1 ml získaného filtrátu bylo přidáno do 10 ml chloracetátového pufru obsahujícího $8 \cdot 10^{-5}$ M-CuSO₄. Po šestiminutovém probublání roztokem byl registrován záznam metodou DPV/CSV. Vzhledem k silné povrchové aktivitě KTG vyžadoval popsany postup práci bez zbytečných časových prodlev.

Výsledkem bylo snížení koncentrace rušivých složek roztoku bez zřetelného ovlivnění obsahu sledované KTG. Reprodukovatelnost analýzy byla lepší než ± 5 % a její správnost,



Obr. 1. Série křivek DPV kyseliny thiodiglykolové v 0,1 M chloracetátovém pufru obsahujícím $8 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1} \text{ CuSO}_4$; $E_{\text{vych}} = -250 \text{ mV}$ (vs. Ag/AgCl); $t_{\text{ac}} = 60 \text{ s}$; rychlost scenu 20 mV.s^{-1} , výška pulsu -50 mV , 5 Hz ; 1 – $5 \cdot 10^{-6} \text{ M}$; 2 – $10 \cdot 10^{-6} \text{ M}$; 3 – $15 \cdot 10^{-6} \text{ M}$; 4 – $20 \cdot 10^{-6} \text{ M}$; 5 – $24 \cdot 10^{-6} \text{ M}$; 6 – $29 \cdot 10^{-6} \text{ M}$; 7 – $34 \cdot 10^{-6} \text{ M}$

ověřená absolutními přídávky KTG a jejich zpětným vyhodnocením, vyhovovala potřebám klinické praxe.

Získané výsledky dokumentuje série voltametrických křivek na obr. 1. Signál KTG se nacházel v oblasti -380 mV vs. SCE a jeho vrchol se v závislosti na koncentraci KTG posouval od -350 mV do -390 mV vs. SCE. Výška DPV-píku, odpovídající jednotlivým přídávám KTG, byla lineární funkcí koncentrace a vyhovovala závislosti

$$i[\text{nA}] = 4,34 \cdot c [\mu\text{M}] - 4,15$$

s korelačním koeficientem $r = 0,999$. Popsaným postupem byla proměřena série vzorků moči různých pracovníků. Nalezené hladiny KTG kolísaly mezi jednotkami až stovkou mg.l^{-1} ; rámcově činí mez kontaminace KTG 50 mg.l^{-1} . S rezervou byly proto vzorky s takto určenou koncentrací $c < 40 \text{ mg.l}^{-1}$ považovány za nekontaminované (s pozadím daným individuální stravou, metabolismem apod.); asi 5 % vzorků s hodnotami $c > 40 \text{ mg.l}^{-1}$ bylo předáno k následné chromatografické analýze, která obsah sumy zmíněných látek nad 40 mg.l^{-1} potvrdila. Analytické výsledky podobné DPV/CSV poskytla též u vybraných vzorků nezávisle provedená izotachoforetická analýza.

Závěr

Popsaný postup úpravy vzorku s návaznou voltametrickou analýzou umožnil rychlé rozlišení vzorků moči nekontamino-

vaných kyselinou thiodiglykolovou (KTG) nad určenou mez od vzorků, u kterých bylo třeba analýzu obsahu KTG náročnějšími chromatografickými metodami provést.

Tato práce se uskutečnila díky finanční podpoře grantu GA ČR č. 203/98/P239.

LITERATURA

1. Samcová E.: Chem. Listy 88, 723 (1994).
2. Křivánková L., Boček P., Samcová E.: Pracov. Lek. 36, 163 (1984).
3. Březina M., Zuman P.: *Polarografie v lékařství, biochemii a farmacii*. Zdravotnické nakladatelství, Praha 1952.
4. Kalvoda R.: Fresenius' J. Anal. Chem. 349, 565 (1994).
5. Kalvoda R., Novotný L.: Collect. Czech. Chem. Commun. 51, 1587 (1986); 51, 1595 (1986).
6. Novotný L.: Fresenius' J. Anal. Chem. 363, 55 (1999).
7. Kováč M., Kalvoda R., Novotný L., Berka A.: Electroanalysis 5, 171 (1993).
8. Novotný L., Krista J.: Electroanalysis 10, 1 (1998).
9. Novotný L., v knize *Nové směry analytické chemie* (Zýčka J., ed.), sv. V., str. 56. SNTL, Praha 1989.
10. Novotný L., v knize *Review on Electrochemistry for Environmental Protection* (Kalvoda R., Štulík K., ed.), str. 49. UNESCO-ROSTE, Venice 1996.
11. Novotný L.: Electroanalysis 2, 287 (1990).
12. Novotný L., Heyrovský M.: Trends Anal. Chem. 6, 176 (1987).
13. Novotný L., Heyrovský M.: Croat. Chem. Acta 70, 151 (1997).
14. Novotný L.: Fresenius' J. Anal. Chem. 362, 184 (1998).

Z. Dlasková^a, L. Dvořáková^b, T. Navrátil^{b,c}, and P. Bašová^b (^aClinic for Occupational Diseases, 1st Medical Faculty, Charles University, ^bUNESCO Laboratory of Electrochemistry of Environment, ^cJ. Heyrovsky Institute of Physical Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague): **Utilization of Active Carbon in Voltammetric Analysis of Thiodiglycolic Acid in Biological Matrix**

A procedure of pretreatment of urine samples with active carbon for voltammetric determination of thiodiglycolic acid is described. The procedure enables rapid distinguishing uncontaminated samples from those contaminated above a certain limit.

ZPŮSOB VOLBY ZÁKLADNÍHO ELEKTROLYTU PRO VOLTAMETRICKÉ STANOVENÍ TRICHLORBIFENYLŮ NA ZÁKLADĚ MĚŘENÍ POVRCHOVÝCH TLAKŮ

KAREL BOJDA a JANETTE KACÍROVÁ

Ústav ochrany životního prostředí, Doubravice 41, 533 53 Pardubice 19, e-mail: Jankar@pha.pvtmet.cz

Došlo dne 10.X.1999

Klíčová slova: polychlorované bifenylly, voltametrie, mezifázová aktivita

Úvod

Trichlobifenylly (TCB) patří k nejrozšířenějším polychlorovaným bifenylům a tvoří dominantní složku u nás do roku 1984 vyráběného Deloru 103, který je od roku 1980 v ČR a SR zařazen mezi podezřelé chemické karcinogeny¹. TCB vzhledem k rozsahu dřívějších aplikací patří mezi nejčastěji sledované kontaminanty životního prostředí². Vedle běžně užívaných chromatografických metod² se pro jeho analýzu (i když někdy jen na orientační úrovni), vzhledem ke své dostupnosti a operativnosti, prosazují metody elektrochemické, např. s využitím adsorpční rozpouštěcí voltametrie³⁻⁷. Z literatury je známo⁵, že významnou roli hraje u těchto technik volba prostředí základního elektrolytu. Tento vliv je důsledkem popsaných souvislostí mezi mezifázovým chováním a adsorpční rozpouštěcí voltametrií či tenzometrií⁵⁻⁹ (AdSV/AdST). Podstatou elektrosorpce a AdSV/AdST TCB jsou zejména adsorpční interakce silně adsorptivních TCB s povrchem obnovované elektrody, uplatnění relativních adsorpčních koeficientů složek přítomných v roztoku, mezičásticové interakce na elektrodovém mezifázovém rozhraní, tvorba adsorbovaných filmů apod. Významnou roli hraje tudíž otázka obnovitelnosti použité elektrody. Vhodnou elektrodou se v praxi ukázala obnovovaná rtuťová kapková elektroda¹⁰⁻¹², zejména její novější verze¹³⁻¹⁵. Publikované výsledky ukazují, že lze dnes mezifázová měření na elektrodovém rozhraní rtuť/roztok využít i pro optimalizaci podmínek analýzy povrchově aktivních látek^{5,6,16,17}.

Cílem tohoto sdělení je popsat obdobný postup využití takových mezifázových měření pro nalezení optimálních podmínek stanovení PCB s využitím adsorpční voltametrie.

Experimentální část

Pro měření povrchových tlaků byla využita elektrokapilární aparatura popsaná^{5,6,16} s vřetenovitými kapilárami^{5,10,16}, jako pracovní elektroda sloužila rtuťová kapková elektroda, jako referentní nasycená rtuťová kalomelová elektroda SKE a jako pomocná Pt-elektroda. Voltametrie TCB byla prováděna s využitím počítačového Eko-Tribo polarografu PC-ETP fy Polarosensors Praha, vzorky TCB (Delor 103) byly získány z n.p. Chemko Strážské, všechny roztoky byly připravované z che-

mikálií čistoty p.a. a z dvakrát destilované vody, měření byla prováděna při laboratorní teplotě 293,15 K.

Pracovní postup

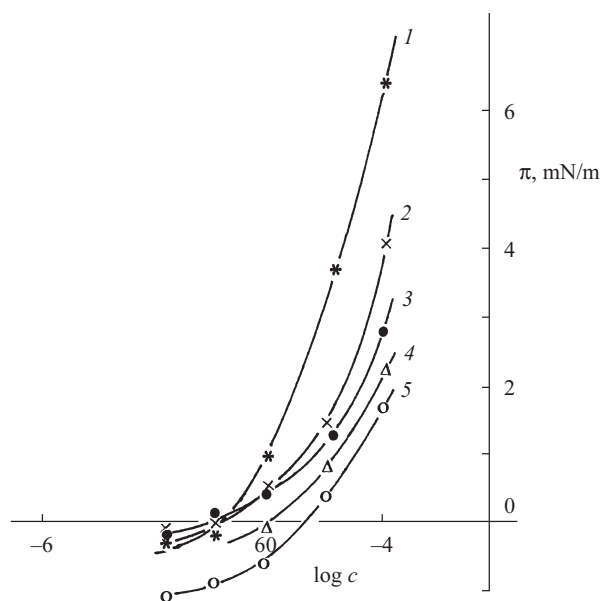
Do měrné nádoby umístíme 10 ml testovaného základního elektrolytu, zasuneme měrnou rtuťovou kapkovou elektrodu RKE, referentní nasycenou kalomelovou elektrodu SKE a popř. pomocnou platinovou Pt-elektrodu. Po vyublání roztoku dusíkem po dobu 5 min se nastaví potenciál RKE na hodnotu $-0,5$ V vs. SKE. Poté se zaznamenává závislost změny doby kapky Δt_k na koncentraci přidávaného TCB a po přepočtu^{6,8,16,17} Δt_k na odpovídající hodnoty povrchových tlaků π podle výrazu $\pi = (425,6/40,5) \cdot \Delta t_k$ (za předpokladu, že při $E = -450$ mV vs. SKE činí $t_k = 40,5$ s) se vynáší závislosti $\pi - \log c$.

Výsledky a diskuse

Řešení zmíněného postupu, obdobného popsanému již v knize^{5,6} vycházelo z teorie mezifázových elektrokapilárních měření^{5,6,16}; pro roztoky elektrolytů obsahující povrchově aktivní látku jako jsou TCB platí pro změnu povrchového napětí rtuťi rovnice (1). Pro obdobný systém lišící se složením základního elektrolytu lze psát rovnici (2). Změna povrchového tlaku při přechodu od prvního systému k systému druhému je dána rovnicí (3), která je rozdílem rovnic (1) a (2).

$$d\gamma' = -q'dE - \Gamma'd\mu - \sum_i \Gamma_i \cdot d\mu_i [T, P] \quad (1)$$

$$d\gamma'' = -q''dE - \Gamma''d\mu - \sum_j \Gamma_j \cdot d\mu_j [T, P] \quad (2)$$



Obr. 1. Série závislostí povrchových tlaků π na $\log c$ TCB v prostředí: 0,05 M-KOH ve směsi ethanol-voda, 1:1 (1); 0,05 M-H₂SO₄ ve vodném roztoku formaldehydu (2); 0,05 M-H₂SO₄ ve směsi ethanol-voda, 1:1 (3); 0,05 M-H₂SO₄ ve směsi DMSO-voda, 1:1 (4); 0,05 M-H₂SO₄ ve směsi DMF-voda, 1:1 (5)

$$d\pi = d\gamma' - d\gamma'' = (\Gamma'' - \Gamma')d\mu [E, \mu_i, \mu_j, T, P] \quad (3)$$

$$d\mu = 2,303.RT.d \log c$$

kde veličiny γ' , γ'' označují povrchové napětí rtuti; q' , q'' povrchové hustoty náboje; Γ' , Γ'' (popř. c) povrchové popř. objemové koncentrace TCB; Γ_i , Γ_j popř. μ_i , μ_j povrchové koncentrace popř. chemické potenciály ostatních složek roztoku; E , T , P , R potenciál elektrody, teplotu, tlak a univerzální plynovou konstantu.

Platí, že čím větší je v daném systému mezifázová aktivita TCB, tím vyšších hodnot nabývají změny $d\pi$ za podmínek uvedených u rovnice (3). Tím lepší jsou též předpoklady citlivého stanovení TCB pomocí AdSV. Výrazy za sumačními znaménky v rovnicích (1) až (3) odrážejí vliv složení základních elektrolytů na hodnotu Γ při dané hodnotě povrchového tlaku π . Proto má složení použitého základního elektrolytu pronikavý vliv zejména na citlivost a mez detekce TCB metodami AdSV.

Z porovnání průběhu $\pi - \log c$ křivek pro různé základní elektrolyty se určí základní elektrolyt, který ze sledované škály vykazuje největší změny π a $\log c$ a nejlépe tak vyhovuje podmínkám aplikace AdSV.

Na obr. 1 je znázorněna série $\pi - \log c$ závislostí pro základní elektrolyty tvořené směsí vody s ethanolem, DMF či DMSO v poměru 1:1 vodným roztokem formaldehydu s přídávkem malého množství KOH či H_2SO_4 , takže jejich výsledná koncentrace je 0,05 M. Největší změny v hodnotách povrchových tlaků byly nalezeny u elektrolytu obsahujícího 0,05 M-KOH ve směsi voda-ethanol (1:1), nejmenší u roztoku 0,05 M- H_2SO_4 v DMF. Čím větší změny π sledované roztoky vykazovaly, tím citlivější adsorpční voltametrická měření poskytovaly. Diagramy $\pi - \log c$ naznačují rovněž oblast koncentrací TCB, ve které dochází k zanedbatelným změnám mezifázové aktivity, popř. i ke změnám nemonotonním, doprovázeným průběhem $\pi - \log c$ křivek pod osou $\log c$.

Popsaný postup tedy v principu umožňuje vytypovat vhodné podmínky pro AdST-stanovení TCB na základě příslušných dat, získaných experimentálně tak, jak bylo popsáno v tomto sdělení, nebo analogickým vyhodnocením z publikovaných literárních dat, jsou-li dostupná.

Autoři děkují za finanční podporu této práce grantu FRVŠ č. F4-0333.

LITERATURA

1. Procházka L., Bříza J., Martan A., Krpálová J.: Prakt. Lek. 6, 207 (1990).
2. Alford-Stevens A. L.: Environ. Sci. Technol. 20, 1194 (1986).
3. Lam N. K., Kopanica M.: Anal. Chim. Acta 161, 315 (1984).
4. Kalvoda R.: Fresenius' J. Anal. Chem. 349, 565 (1994).
5. Novotný L., v knize: *Electrochemistry for Environmental Protection* (Kalvoda R., Štulík K., ed.), str. 49. UNES-CO-ROSTE, Venice 1996.
6. Novotný L., v knize: *Nové směry v analytické chemii* (Zýka J., ed.), sv. 5, str. 56. SNTL, Praha 1989.
7. Novotný L., Krista J.: *Electroanalysis* 10, 1 (1998).
8. Novotný L., Rudlovský J.: *Vodní hospodářství B* 4, 97 (1984).
9. Novotný L.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 362, 1984 (1998).
10. Novotný L.: *Electroanalysis* 2, 287 (1990).
11. Novotný L., Heyrovský M.: *Trends Anal. Chem.* 6, 176 (1987).
12. Novotný L.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 61, 1703 (1996).
13. Novotný L.: *Vodní hospodářství a ochrana ovzduší* 9, 16 (1994).
14. Novotný L., Heyrovský M.: *Croat. Chem. Acta* 70, 151 (1997).
15. Novotný L.: *Electroanalysis* 8, 135 (1996).
16. Novotný L., Smoler I.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 50, 2525 (1985).
17. Krumbein A., Novotný L., Retter U.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 59, 1745 (1994).

K. Bojda and J. Kacírová (*Department of Environment Protection, University of Pardubice, Pardubice*): **The Choice of Base Electrolyte for Voltammetric Trichlorobiphenyls Determination Based on Surface Pressure Measurement**

A method of basic electrolyte choice for voltammetric determination of trichlorobiphenyl (TCB) in mixed solvents (water – ethanol, dimethylformamide, dimethyl sulfoxide, or formaldehyde, 1:1) containing 0.05 M- H_2SO_4 or 0.05 M-KOH as electrolytes, based on surface pressure measurement was described. The highest interphase activity of TCB was observed in 0.05 M-KOH in a water – ethanol mixture (1:1), the lowest in 0.05 M- H_2SO_4 in water – dimethylformamide.

RECENZE

Miloslav Rechcigl, Jr.:

Postavy naší Ameriky

Pražská edice, Praha 2000. Stran 356.

Od roku 1950 žije v USA biochemik Miloslav Rechcigl, který přes 40 let shromažďoval údaje o osobnostech, jež měly kořeny v našich zemích a které se staly významnými pro Ameriku. Z ohromného množství materiálu sestavil 105 portrétů. Kniha s podtitulem „Poučné a zábavné čtení ze života zahraničních Čechů“ skutečně takovým čtením je.

Rechcigl uspořádal medailonky podle zaměření činnosti osob v knize uvedených. Pětinu knihy tvoří medailonky významných přírodovědců, matematiků, lékařů a techniků. Koho si Rechcigl vybral? Patologa a bakteriologa Simona Flexnera, průkopníka americké mikrobiologie Fredericka Nového, antropologa Aleše Hrdličku, botanika Bohumila Šimka, manžele Coriovy (Nobelova cena 1947), fyzika Felixe Blocha, objevitele nukleární rezonance (Nobelova cena 1952), matematika Václava Hlavatého, matematického logika Kurta Gödela, astrofyzika a vynálezce prvních tryskových motorů Fritze Zwickyho, chemika Thomase Cecha (Nobelova cena 1989), z lékařů Šimona Polaka, Carla Kollera, Olgu Šťastnou a Helenu Taussigovou, mostního inženýra Gustava Lindenthala, zakladatele radioastronomie Karla Janského a další. Z ostatních odvětví jsou uvedeni např. Madelaine Albrightová, Antonín Čermák, Vojtěch Náprstek, Ferdinand Peroutka, Egon Hostovský, Rudolf Firkušný, Rudolf Friml, Bohuslav Martinů, Jaroslav Ježek, Jarmila Novotná, Jiří Voskovec, František Dvorník, Otakar Odložilík aj.

Amerika je tavicím kelímkem evropských, asijských a afrických národů. Podobnou knihu jako sepsal Rechcigl by mohl napsat nějaký Polák, Rus či Ind o Polácích, Rusech či Indech v Americe, ale podíl významných Čechů na úspěchu Ameriky je vzhledem k velikosti českého národa mimořádně velký. Přečtěte si recenzovanou knihu, nebudete litovat.

Jiří Jindra

Herfried Griengl (Ed.):

Biocatalysis

Springer-Verlag, Wien 2000, ISBN 3-211-83527-X. Stran 179; cena 228,- DEM.

V řeči organických chemiků je biokatalýza syntetický přístup, při němž se používají přirozené katalyzátory, enzymy, pro urychlení reakcí „nepřirozených“ substrátů. Toto spojení organické syntézy s biochemickým prvkem nabývá v současné době stále většího významu a má již dnes důstojné postavení vedle klasických postupů využívajících homogenní nebo heterogenní katalyzátory. Ve srovnání s nimi umožňuje biokatalýza mimořádně vysokou chemo-, regio- a stereoselektivitu; v mnoha případech se ukázalo, že je to jediná možnost pro splnění daného syntetického úkolu. Mezi vysoce ceněné přednosti biokatalýzy patří i to, že použití enzymů, ať již izolova-

ných nebo v podobě celých buněk, nabízí možnost ekologicky čisté výroby v průmyslovém měřítku.

Z těchto důvodů je biokatalýza studována na mnoha pracovištích na celém světě. Aby dokumentoval současný stav vývoje této disciplíny, uspořádal prof. H. Griengl z Technické univerzity v Štýrském Hradci (Graz, Rakousko) příspěvky řady vědců do útlého svazku (179 stran). První 4 příspěvky byly editorem vyžádány a mají formu přehledného referátu, další kapitoly jsou již spíše ve formě časopiseckého článku. Pro informaci uvádíme názvy příspěvků spolu se jmény autorů a místa jejich pracovišť; tyto informace mohou posloužit zejména pro vyhledání autorů na internetových stránkách:

1. G. Colombo, G. Ottolina, G. Carrea: Modelling of enzyme properties in organic solvents. Milano, Itálie.
2. F. van Rantwijk, M. A. P. J. Hacknig, R. A. Sheldon: Lipase-catalyzed synthesis of carboxylic amides: nitrogen nucleophiles as acyl acceptor. Delft, Holandsko.
3. D. Kadereit, H. Waldman: Chemoenzymatic synthesis of lipidated peptides. Dortmund, SRN.
4. M. Ferrero, V. Gotor: Chemoenzymatic transformation in nucleoside chemistry. Oviedo, Španělsko.
5. E. Santaniello, P. Ferraboschi, S. Reza-Elahi: Lipase-catalyzed regio- and stereoselective acylation of hydroxy groups in steroid side chains. Milano, Itálie.
6. B. Galunsky, K. Lummer, V. Kasche: Comparative study of substrate- and stereospecificity of penicillin G amidase from different sources and hybrid isoenzymes. Hamburg, SRN.
7. E. Henke, S. Schuster, H. Yang, U. T. Bornscheuer: Lipase-catalysed resolution of ibuprofen. Greifswald, SRN.
8. M. Pogorevc, U. T. Strauss, M. Hayn, K. Faber: Novel carboxyl esterase preparations for the resolution of linalyl acetate. Graz, Rakousko.
9. M. Pietzsch, T. Wanek, R. J. Smith, S. Bratovanov, S. Bienz, C. Syltatk: Microbial and enzymatic synthesis of optically pure D- and L-trimethylsilyl-alanine by deracemization of D,L-5-trimethylsilyl-methyl-hydantoin. Stuttgart, SRN a Zurich, Švýcarsko.
10. J. Colby, D. Snell, G. W. Black: Immobilization of *Rhodococcus* AJ270 and use of entrapped biocatalyst for the production of acrylic acid. Sunderland, UK.
11. H. L. Holland, P. R. Andreana, R. Salehzadeh-Asl, A. van Vliet, N. J. Ihasz, F. M. Brown: *Beauveria bassiana* ATCC 7159 contains an L-specific α -amino acid benzamidase. St. Catharines, Kanada.
12. D. R. Boyd, D. Clarke, M. C. Cleij, J. T. G. Hamilton, G. N. Sheldrake: Bacterial biotransformation of isoprene and related dienes. Belfast, UK.
13. A. Tuynman, H. E. Schoemaker, R. Wever: Enantioselective sulfoxidation catalyzed by horseradish peroxidase, manganese peroxidase and myeloperoxidase. Amsterdam a Geleen, Holandsko.
14. W. Adam, C. R. Saha-Möller, O. Weichold: Synthesis of optically active α -methyl- β -hydroperoxy esters by diastereoselective singlet oxygen reaction and horseradish peroxidase catalyzed kinetic resolution. Würzburg, SRN.

Všechny příspěvky jsou doplněny přiměřeným seznamem další literatury. Toto kolektivní dílo může sloužit jak pracovníkům se zájmem o širší oblasti biochemie a organické chemie jako souhrnná informace o současném stavu studia biokatalýzy, tak i organickým syntetikům pro hlubší poznání jednotlivých typů reakcí.

Milan Kodíček

H. Barvínková (Ed.):

Věda v Československu v letech 1953–1963

Archiv AV ČR v nakladatelství Arenga, Praha 2000.

Stran 592.

Kniha obsahuje příspěvky ze 3. konference o české vědě ve 20. století konané na podzim 1999 v Praze. Časově byla konference omezena léty 1953–1963.

Publikované referáty jsou rozděleny do 9 kapitol, jejichž názvy napoví, čemu byly věnovány. Kapitola 1 je o české vědě, která v uvedeném období oscillovala mezi světovostí a izolací. Další kapitoly si všímají poměrů na vysokých školách, v ČSAV, ve společenských vědách, v dějepisectví, archeologii, dějinách umění atd. Pro chemiky a přírodovědce

budou zajímavým čtením kapitola čtvrtá o přírodních vědách (např. příspěvky M. Šolce – Dvojí tvář čs. věd o vesmíru, M. Ferlese – R. Lukeš, průkopník organické syntézy, J. Sekeřáka – Postoj k Nobelově ceně P. B. Medawara, V. Podaného – Jaroslav Heyrovský v 50. a 60. letech, A. Marčekové – Z historie organizovania slovenských chemikov, L. Pátého – Obnovení činnosti Jednoty čs. matematiků a fyziků), dále kapitola devátá o deformacích věd a jejich překonávání (např. referáty J. Pokorného – Věda výrobní silou. Počátky Vědeckotechnické společnosti, J. Janka – Soumrak mičurinské biologie v českých zemích a J. Jindry – Přírodní vědy a KSČ). V části Dokumenty jsou neobyčejně zajímavé výňatky z diáře Jaroslava Heyrovského, které zveřejnil jeho syn Michael.

Starší čtenáři knihy se přenesou do svých mladých let, kdy i za podmínek totalitního politického systému se „dělala“ věda, mladým čtenářům kniha přinese poučení a měla by být i mementem, jakými směry se věda také může ubírat.

Knihu rozhodně doporučuji všem přírodovědcům pro kapitoly jich se týkající, i pro kapitoly z oblasti společenských a humanitních věd, o něž by měl mít zájem každý chemik, fyzik či biolog.

Jiří Jindra

OSOBNÍ ZPRÁVY

Prof. RNDr. PhMr. Robert Kalvoda, DrSc. pětasedmdesátiletý

Čas neúprosně běží, a tak jsem byl požádán, abych připomněl, že za pár dní se Bob Kalvoda stane pětasedmdesátínkem, ač se mi zdá, že k jeho sedmdesátinám jsem mu gratuloval včera. Co naděláme... Nechtěl bych opakovat to, co jsem napsal ke Kalvodovým sedmdesátinám (Chem. Listy 90, 196 (1996)), ale rozhodně jsem svůj názor v ničem nezměnil. Přesto alespoň několik vět.

Stále dominantnější a obdivuhodnější se mi zdá Bobova vitalita. Ačkoli by mohl, tak jako mnozí, obrátit svou pozornost k minulosti a k přítomným větším či menším neduhům, činí pravý opak – dívá se dopředu. Stále denně dochází do svého mateřského ústavu a podílí se na jeho práci. Stále se účastní tradičních elektroanalytických konferencí a seminářů. A nejen to: zdaleka není pasivním účastníkem. Má neobyčejný přehled o současném stavu elektrochemie a elektroanalýzy a dokáže rychle odhadnout, kam se další vývoj nejspíše bude ubírat.

Nám o pár let mladším (ale i těm o hodně mladším) může být příkladem v přístupu k životu: vždy vidět to, co se v jedné swingové písni z třicátých let právě minulého století nazývá „the brighter side“, nepoddávat se nepřízní osudu a radovat se z tvůrčí práce.

Mnoho zdraví, spokojenosti a neztenčenou vitalitu, Bobe.

Karel Štulík

Prof. RNDr. Pavel Mader, CSc. – 60 let

Pavel Mader se narodil 6.3.1941 v Hodoníně v učitelské rodině. Kdyby město nebylo v listopadu 1944 bombardováno, zřejmě by vyrůstal na Slovácku a studoval v Brně. Takto se rodina po válce přestěhovala do Liberce, kde Pavel v roce 1957 maturoval. Po promoci na PřF UK v Praze v r. 1962 (obor chemie) byl přijat do vědecké aspirantury na Polarografickém ústavu ČSAV. Jeho školitel prof. R. Brdička mu zadal k řešení tzv. Brdičkovy katalytické proudy bílkovin. V roce 1966 získal stipendium u prof. I. M. Kolthoffa na Minnesotské státní univerzitě v USA. Stáž zahájil v únoru 1967 a i zde se věnoval stejné problematice jako v disertační práci.

Po návratu do Československa pracuje od února 1970 na Agronomické fakultě VŠZ (dnes ČZU) v Praze, nejprve jako odborný asistent pro radiobiologii a biofyziku a od r. 1981 jako vědecký pracovník ve skupině živočišné fyziologie; zde dostal za úkol vybudovat laboratoř pro stanovení těžkých kovů v biologických materiálech. V r. 1994 se habilitoval na katedře analytické chemie PřF UK a od 1.9.1995 je vedoucím katedry chemie AF ČZU. V listopadu 1997 byl jmenován profesorem pro obor kvalita zemědělských produktů.

Výše uvedené curriculum určilo jeho vědecké zájmy. Výsledky studia polarografické aktivity cysteinu (nositele Brdičkovy aktivity proteinů), cystinu a jejich analog souhrnně zhodnotil v práci¹ původně vyžádané do připravovaného jubilejního čísla časopisu Collection k 65. narozeninám prof. R. Brdičky;

bohužel po jeho náhlém úmrtí v červnu 1970 se stalo číslem pamětním. Na ČZU se nejprve zabýval studiem složení, struktury a aktivity fotosyntetického aparátu vyšších rostlin a zeelených řas. Jako první u nás provedl izolaci a SDS-PAGE separaci membránových proteinů a pigment-proteinových komplexů thylakoidů chloroplastů. Významnou se stala jeho spolupráce s dr. J. Naušem z katedry chemické fyziky MFF UK, a od r. 1977 i s oddělením autotrofních mikroorganismů ČSAV v Třeboni (viz též Z. Šesták ve své práci² „History of photosynthesis research in Czechoslovakia“). Rok 1981 znamená návrat k elektrochemickým metodám, neboť to zpočátku byly pouze diferenční pulsní polarografie a anodická rozpouštěcí voltametrie na rtuťové elektrodě, které měl pro stanovení těžkých kovů k dispozici. Jelikož obě fungují pouze tehdy, jsou-li z analyzovaného vzorku biologického materiálu dokonale odstraněny veškeré zbytky jeho organické osnovy, hledání, ověřování a validování použitelné metody mineralizace na suché cestě se stalo dalším předmětem metodického výzkumu Pavla Madera. Od počátku 80. let se stala předmětem velkého zájmu jubilanta i skupina rostlinných a živočišných peptidů zvaných metalothioneiny. Tyto peptidy totiž obsahují 30–50 % zbytků cysteinu, jehož polarografickému studiu se věnoval již ve své disertaci. Elektrochemicky aktivní jsou i kationty těžkých kovů, které biosyntézu metalothioneinů v živých systémech vyvolávají. Práce s těmito látkami^{3,4} tak logicky doplňuje studii¹ i práce na ni navazující (např.^{5–8}).

Prof. Mader pracuje řadu let v komisi pro referenční materiály (RM) Českého metrologického institutu a je členem jeho vědecké rady. Několik let zastupoval ČR ve výboru pro RM při ISO v Ženevě a v sekci EUROMET „Amount of Substance“. Je zakládajícím členem EURACHEM-ČR. Od r. 1998 je předsedou oborové rady nově akreditovaného postgraduálního doktorského studia „Zemědělská chemie“ na AF ČZU.

Ale nejen vědou živ je člověk. To plně platí i pro prof. Madera. Je to především hudba, které věnoval a věnuje mnoho času. Počátkem 70. let vystudoval při zaměstnání Lidovou konzervatoř, od té doby veřejně vystupuje a pomáhá organizovat hudební život na ČZU. Posledních šest let přednáší o české hudbě americkým studentům v rámci pravidelných letních škol, které pořádá v Praze PEF ČZU ve spolupráci s University of Ohio.

LITERATURA

1. Mader P.: Collect. Czech. Chem. Commun. 36, 1035 (1971).
2. Šesták Z.: Photosynthetica 27, 1 (1992).
3. Mader P.: Talanta 43, 521 (1996).
4. Mader P.: Analusis 25, 175 (1997).
5. Mader P.: Collect. Czech. Chem. Commun. 53, 1579 (1988).
6. Heyrovský M., Mader P.: J. Electroanal. Chem. 369, 53 (1994); 430, 103 (1997).
7. Šestáková I. et al.: Electroanalysis 7, 237 (1995); 10, 764 (1998).
8. Šestáková I., Mader P.: Cell. Mol. Biol. 46, 257 (2000).

Daniela Mihalová

ODBORNÁ SETKÁNÍ

31. zasedání Divize analytické chemie Federace evropských chemických společností (Division of Analytical Chemistry of the Federation of European Chemical Societies – DAC FECS).

Výroční zasedání DAC FECS proběhlo 3. září 2000 v Lisabonu v návaznosti na mezinárodní konferenci EUROANALYSIS XI. K nejdůležitějším bodům programu patřilo zhodnocení konference EUROANALYSIS XI v Lisabonu a příprava konference EUROANALYSIS XII v roce 2002 v Dortmundu. Dále bylo v tajném hlasování rozhodnuto, že konference EUROANALYSIS XIII se v roce 2004 bude konat ve španělské Salamance. Podrobně byly diskutovány otázky související s evropským curriculum analytické chemie, s výšlou učebnicí profesora Kellnera a jeho spolupracovníků a s přípravou jejího dalšího vydání. Problematika moderního přístupu k výuce analytické chemie by měla být i hlavním bodem připravovaného společného setkání DAC FECS a zástupců divize analytické chemie Americké chemické společnosti.

Dále byly projednávány otázky související s iniciativami DAC FECS v oblasti akreditace analytických laboratoří a v oblasti zabezpečování kvality výsledků analytických měření. Účast zástupce České společnosti chemické na práci DAC FECS byla umožněna jednak grantem Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky v rámci projektu INGO LA 034(2000) (Reprezentace české analytické chemie ve Federaci evropských chemických společností) a jednak laskavou podporou firem Merck s.r.o. Praha, Janssen-Cilag ČR, Polaro-Sensors s.r.o. Praha, Výzkumný ústav organických syntéz, Pardubice-Rybitví a ChromSpec, Praha. Je milou povinností autora poděkovat výše uvedeným firmám za jejich pochopení a podporu aktivit České společnosti chemické a odborné skupiny analytické chemie. Všechny materiály související s činností DAC FECS jsou k dispozici na adrese: Katedra analytické chemie, PŘF UK, Albertov 2030, 128 43 Praha 2, tel: 2195 2295, fax: 2491 3538, e-mail: Barek@natur.cuni.cz.

Jiří Barek, zástupce České společnosti chemické v DAC FECS

ZPRÁVY

4. ročník Soutěže o cenu firmy Merck za nejlepší studentskou vědeckou práci v oboru analytická chemie v roce 2001

Ve dnech 1. a 2. února 2001 na katedře analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci soutěžili studenti chemie ze šesti českých vysokých škol v již čtvrtém ročníku Soutěže o cenu firmy Merck, která byla opět organizovaná Odbornou skupinou analytické chemie České společnosti chemické ve spolupráci se Spektroskopickou společností Jana Marka Marci výše uvedenou katedrou Univerzity Palackého. V tomto ročníku se soutěže zúčastnilo celkem 11 studentů, jejichž práce důstojně reprezentovaly jednotlivé vysoké školy a dokumentovaly rostoucí úroveň analytické chemie v naší republice. První cenu získal Martin Valík z VŠCHT Praha za práci „Nové receptorové systémy pro interakci s DNA-polypyrolové deriváty Trögerovy báze“, druhou cenu Karolína Pecková z Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze za práci „Polarografické a voltametrické stanovení stopových množství 1-nitronaftalenu“ a třetí cenu Petr Fryčák z Univerzity Palackého v Olomouci za práci „Hmotnostně spektrometrická metoda pro monitoring pyrimidinových a purinových metabolitů v moči“. Ceny předal studentům zástupce firmy Merck Ing. Ivo Daňhel. Zvláštní ocenění dále získali: Dagmar Frišová (UJEP, Ústí nad Labem) – Monitorování obsahu selenu v lidském organismu metodou atomové absorpční spektrometrie, Ladislav Mokoš (VŠB-TU, Ostrava) – ²⁹Si NMR strukturální analýza vybraných vzorků vodních skel, Michal Peňáz (VŠB-TU, Ostrava) – Organická strukturální analýza výluhů uhlí a Jitka Půlpytlková (UJEP, Ústí nad Labem) – Využití některých biologických materiálů pro stanovení obsahu některých kovů v lidském organismu metodou atomové absorpční spektrometrie. V případě zvláštních

ocenění porota vysoce ohodnotila kvalitu prací vzniklých mimo existující tradiční centra analytické chemie, v jejichž případě dosažení vysoce kvalitních výsledků vyžadovalo nepochybně vyšší osobní nasazení nežli na zaběhnutých pracovištích s vybudovanou výzkumnou infrastrukturou. Autor tohoto příspěvku byl zejména mile překvapen kvalitou soutěžních prací z Pedagogické fakulty UJEM v Ústí nad Labem, které – ač vypracované nespécialisty v oboru analytické chemie – klidně snesou i nejnáročnější měřítka. Domnívám se, že takto kvalitně připravení budoucí učitelé chemie s nadšením pro tento obor mohou udělat mnoho pro jeho popularizaci na středních školách a tím zajistit dostatek kvalitních zájemců o vysokoškolské studium chemie, což je nepochybně nutná podmínka pro další rozvoj chemie u nás. A lidé, kteří takovému budoucí učitele připravují, si nepochybně zaslouží naše poděkování. Česká společnost chemická věnovala všem oceněným soutěžícím předplatné Chemických listů na rok 2001 a současně nabídla uveřejnění jejich soutěžních prací v tomto časopise. Organizaci soutěže zajišťoval kolektiv pracovníků katedry analytické chemie PŘF UP v Olomouci (Mgr. Pavel Adamovský, Mgr. Petr Barták, Mgr. Petr Bednář, Mgr. Aleš Gavenda, Eva Hauserová, Mgr. David Jirovský, doc. Karel Lemr a prof. Zdeněk Stránský), který pod vedením doc. Juraje Ševčíka dokázal dobře připravit celou soutěž a navíc vytvořit neobyčejně příjemné ovzduší, na které všichni účastníci budou jistě rádi vzpomínat. Na závěr nezbyvá než poděkovat firmě Merck a Spektroskopické společnosti Jana Marka Marci za vydatnou pomoc a podporu této nepochybně užitečné a významné akce a popřát si, aby stejně úspěšné bylo i jubilejní 5. kolo této soutěže, které je předběžně plánováno na únor 2002 na pražskou VŠCHT v rámci oslav 50. výročí jejího založení.

Jiří Barek

OBSAH

ÚVODNÍK	137
REFERÁTY	
Separace chirálních látek kapilární elektroforézou J. Ševčík, E. Tesařová a Z. Stránský	139
Systém univerzální rtuťové elektrody s miniaturizovaným tužkovým čidlem L. Novotný	147
Reaktory s tuhou fází v průtokové injekční analýze D. Šatínský a R. Karlíček	150
Isoprenoidy v atmosféře Z. Večeřa	157
Stanovení syntetických barviv v potravinách separačními metodami A. Šlampová, D. Smělá, A. Vondráčková, I. Jančářová a V. Kubáň	163
Biodegradace přeměny chlorovaných alifatických uhlovodíků M. Španělová	169
Katalytická oxidace uhlíkatých materiálů V. Slovák	173
LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY	
Porovnání slabých extrakčních činidel pro stanovení rostlinou přijatelného podílu As, Cd a Zn v půdě J. Száková, P. Tlustoš, J. Balík, D. Pavlíková a M. Balíková	179
Využití aktivního uhlí pro voltametrickou analýzu kyseliny thiodyglykolové v biologické matrici Z. Dlasková, L. Dvořáková, T. Navrátil a P. Bašová	184
Způsob volby základního elektrolytu pro voltametrické stanovení trichlorbifenylů na základě měření povrchových tlaků K. Bojda and J. Kacířová	186
RECENZE	188
OSOBNÍ ZPRÁVY	190
ODBORNÁ SETKÁNÍ	191
ZPRÁVY	191

CONTENTS

EDITORIAL	137
REVIEW ARTICLES	
Separation of Chiral Compounds by Capillary Electrophoresis J. Ševčík, E. Tesařová, and Z. Stránský	139
Universal Mercury Electrode System with a Miniaturized Pen-Type Sensor L. Novotný	147
Solid Phase Reactors in Flow Injection Analysis D. Šatínský and R. Karlíček	150
Isoprenoids in the Atmosphere Z. Večeřa	157
Determination of Synthetic Colorants in Foodstuffs A. Šlampová, D. Smělá, A. Vondráčková, I. Jančářová, and V. Kubáň	163
Biodegradation Transformations of Chlorinated Aliphatic Hydrocarbons M. Španělová	169
Catalytic Oxidation of Carbonaceous Materials V. Slovák	173
LABORATORY EQUIPMENT AND METHODS	
A Comparison of Suitability of Mild Extraction Procedures for Determination of Available Portion of As, Cd and Zn in Soil J. Száková, P. Tlustoš, J. Balík, D. Pavlíková, and M. Balíková	179
Utilization of Active Carbon in Voltammetric Analysis of Thiodiglycolic Acid in Biological Matrix Z. Dlasková, L. Dvořáková, T. Navrátil, and P. Bašová	184
The Choice of Base Electrolyte for Voltammetric Trichlorobiphenyls Determination Based on Surface Pressure Measurement K. Bojda and J. Kacířová	186
BOOK REVIEWS	188
PERSONAL NEWS	190
MEETINGS	191
NEWS	191

CHEMICKÉ LISTY • ročník/volume 95 (2001), čís./no. 3 • LISTY CHEMICKÉ, roč./vol. 125, ČASOPIS PRO PRŮMYSL CHEMICKÝ, roč./vol. 111 • ČASOPIS ASOCIACE ČESKÝCH CHEMICKÝCH SPOLEČNOSTÍ • Bulletin roč./vol. 32 • Vydává Česká společnost chemická ve spolupráci s Vysokou školou chemicko-technologickou v Praze, s Českou společností průmyslové chemie a Ústavem organické chemie a biochemie AV ČR, za finanční podpory Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy (projekt PG 97142), Nadace Český literární fond a kolektivních členů ČSCH • Published by the Czech Chemical Society • VEDOUcí REDAKTOR/EDITOR-IN-CHIEF: B. Kratochvíl • REDAKTORI/EDITORS: J. Barek, Z. Bělohav, P. Drašar, J. Gut, J. Hetflejš, P. Chuchvalec, J. Podešva, P. Rauch, J. Volke, M. Bláhová (Bulletin), M. Ferles (Bulletin), B. Valter (Bulletin), I. Valterová (Bulletin), R. Liboska (webové stránky), P. Zámstný (webové stránky) • ZAHRAŇIČNÍ A OBLASTNÍ REDAKTORI/FOREIGN AND REGIONAL EDITORS: F. Švec (USA), L. Opletal (Hradec Králové), J. Soušek (Olomouc), J. Šibor (Brno) • VÝKONNÁ REDAKTORKA/EDITORIAL ASSISTANT: C. Jiráťová • REDAKČNÍ RADA/ADVISORY BOARD: E. Borsig, M. Černá, L. Červený, E. Dibuszová, M. Drdák, J. Hanika, J. Churáček, Č. Jech, I. Kadlecová, J. Káš, J. Koubek, T. Míšek, J. Pacák, V. Pačes, O. Paleta, I. Stibor, V. Šimánek, R. Zahradník • ADRESA PRO ZASÍLÁNÍ PŘÍSPĚVKŮ, INZERCI, INFORMACE O PŘEDPLATNÉM, OBJEDNÁVKY A PRODEJ JEDNOTLIVÝCH ČÍSEL/MANUSCRIPTS IN CZECH, SLOVAK OR ENGLISH CAN BE SENT TO: Chemické listy, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel./phone +420(2) 2108 2370, fax +420(2) 2222 0184, e-mail: jiratova@csvts.cz, IČO 444715 • SOUHRNÝ NA INTERNETU/PREPUBLISHED ABSTRACTS ON URL: http://staff.vscht.cz/chem_listy/index.html • TISK: PORS 052, Školní náměstí 11, 537 33 Chrudim; SAZBA: SF SOFT, Jionická 329, 158 00 Praha 5 • Copyright © 2001 Chemické listy/Česká společnost chemická • Cena výtisku 100 Kč, roční předplatné 2001 (12 čísel) 1034 Kč. Předplatné ve Slovenské republice 2310 Kč. Pro členy ČSCH je sleva 50 %, pro studenty 70 % • DISTRIBUTION ABROAD: KUBON & SAGNER, POB 34 01 08, D-80328 Munich, FRG; Annual subscription for 2001 (12 issues) DEM 440 • Podávání novinových zásilek povoleno ČP s.p. OZ VČ, č.j. PP/I 5333/95 • This journal has been registered with the Copyright Clearance Center, 2322 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923, USA, where the consent and conditions can be obtained for copying the articles for personal or internal use. • Pokyny pro autory najdete v čísle 7/97 na straně 492, nebo budou zaslány na požádání, zkratky odb. časopisů viz 10/97 str. 911 • Instructions for authors will be sent on request. • Chemické listy obsahující Bulletin jsou zaslány zdarma všem individuálním a kolektivním členům ČSCH a ČSPCH v ČR i zahraničí, do všech relevantních knihoven v ČR a významným představitelům české chemie a chemického průmyslu. V rámci dohod o spolupráci i členům dalších odborných společností. SAZBA BULLETINU: B. Valter, SEKRETARIÁT ČSCH: Novotného lávka 5, tel., fax +420(2) 2222 0184, e-mail: mblahova@csvts.cz