

## Problémy našich vysokých škol

Tři otázky a odpovědi místo úvodu:

1. Jak poznáme, že je situace na vysokých školách v Německu skutečně vážná?

Až se tamní nezaměstnaní profesori budou ucházet o místo na českých vysokých školách...

2. Jaký je rozdíl, objeví-li se génius na vysoké škole v USA nebo v ČR?

Prakticky žádný – v USA si jej prestižní instituce bude hýčkat, aby pro ni získal Nobelovu cenu. A v ČR jej náš systém rychle donutí k dobrovolné emigraci – nejčastěji do USA a dále již bude situace stejná...

3. Překvapuje nás, že Škoda-auto najímá švédského šéfa vývoje?

Jistě ne, protože škodovka chce vyrábět auta na světové úrovni. Ovšem najmout špičkového profesora z ciziny, protože chceme vychovávat studenty na světové úrovni, je stále považováno za nemožně bláznivé...

Problémů na našich vysokých školách (pod pojmem vysoká škola rozumíme pro účely tohoto článku všechny instituce, které udělují vysokoškolský titul alespoň na magisterské úrovni) je mnoho – všechny jsou řešitelné. Chybí k tomu malíčkovost – vůle něco skutečně řešit, a to jak shora (obvykle proto, že přes nejrůznější prohlášení zůstává vzdělání na periferii zájmu naší politické reprezentace), tak zdola (obvykle proto, že stále ve značném procentu platí ono pověstné: „stát předstírá, že nás platí, a my předstíráme, že pilně pracujeme“).

Pokusím se dále některé problémy pojmenovat. Výběr bude subjektivní, opřený o zkušenosti z více než 30 let prožitých na VŠCHT Praha a ÚOCHB ČSAV v řadě funkcí (od inženýra, který nesměl učit studenty, aby je ideově nekazil, až po rektora, který abdikoval, aby svými názory školu názorově nerozložil).

### Personální politika

„Špičková vysokoškolská instituce musí mít špičkové profesory – nedokáže-li si je vychovat nebo přilákat, přestává být špičkovou“, to je obecně přijímaný fakt, ale pouze slovem. Kvalitní zahraniční instituce dělají velmi mnoho, aby získaly mladé, dynamické vědce, kteří budou poté šířit jejich slávu a věhlas. To je na našich vysokých školách téměř bez výjimky naprosto neznámá věc. Personální politiku v tomto smyslu nedefinovala ani jedna vysoká škola. Diskuse o tom, jakého profesora by daná fakulta či „Department“ potřebovaly pro zvýšení své kvality, je v zahraničí naprosto běžná, a byl jsem jí několikrát osobně přítomen. Naopak mi není známo, že by se v tomto smyslu vážně diskutovalo na kterékoliv fakultě našich vysokých škol. Očekával jsem, že s naším „vstupem do Evropy“ se toto provinciální chování našich vysokých škol změní – neděje se však nic. Pouze Akademie věd ČR, jako již mno-

hokrát v minulosti, vysoké školy předběhla a v tomto směru již mnohé dělá (např. stipendia J. E. Purkyně, možnosti ubytování). Že to stále není dostatečně velkorysý? To je pravda, ale vysoké školy nedělají ani to. Zároveň je to důkazem, že se s personální politikou něco dělat dá, je-li k tomu vůle a překonáme-li naši tradiční rovnostářskou náturu a nechut' k elitám. (K této problematice se velmi váže článek „Cesty vědy v Česku – Rozhovor s prof. Václavem Hořejším“)

### Elity a rovnostářství

At' se nám to – průměrně nadaným – líbí nebo ne, světově proslulí vysokoškolské profesori jsou elitou. Bez vysoce nadprůměrného nadání a mimořádné pracovitosti se do této skupiny lidí nelze dostat. Měl jsem to štěstí, že jsem jeden rok pracoval v laboratoři J.-M. Lehna, právě v roce, kdy získal Nobelovu cenu. Viděl jsem, jak žije, jak pracuje, jak jedná se svými kolegy, jak se chová ke svému okolí. Rok je již dostatečně dlouhá doba, aby člověk nahlédl i trochu za oponu, navíc při oslavách čerstvého nobelisty prošlo laboratoří mnoho dalších pozoruhodných osobností. Dovolím-li si generalizaci – všichni tito výjimeční lidé jsou velmi nestandardní svým životem, chováním, nároky i potřebami – přesto jsou pro kvalitativní pokrok v lidském vědění naprosto nezbytní a každá vysoká škola z jejich působení má nutně prospěch. Měla by tedy něco udělat pro to, aby takové nadstandardní jedince získala a udržela. Je naprosto lhostejné, zda nadstandard představuje Nobelova cena, nebo se úroveň položí trochu níže. Proto by se každá vysoká škola měla snažit pro budování a zvýšení své konkrétní úrovně získat nadstandardní studenty a profesory. Myslím si, že náš vysokoškolský systém to obecně nepodporuje a vysoké školy samy o to ani nestojí. To je zásadní neduh našeho vysokého školství a přitom je opět řešitelný – navíc statut většiny našich vysokých škol dovoluje nečekat na pokyn shora a s řešením započít ihned. Bohužel, děje se pravý opak – přechod na strukturované studium vede, promiňte ten drsný výraz, k orientaci vysokých škol na „masu“. Cílem je dát bakalářské vzdělání vyššímu procentu populace, což nezbytně vede ke snížení požadavků, a tím i úrovně. Nekritizují tento fakt, kritizují ale to, že se při této přestavbě studia málo zajímáme o ty mimořádně nadané, o tu elitu, kterou bychom měli přitáhnout a udržet. Bohužel se výsledky tohoto nemoudrého počínání projeví až za delší čas. Zmíněný efekt postihne pochopitelně nejcitelněji ty kvalitní vysoké školy, protože „mají ještě kam klesat“. A dostáváme se k další bolesti našich vysokých škol – k totální absenci „objektivního“ hodnocení jejich úrovně – k evaluaci.

### Úroveň vysokých škol – evaluace

Pro studenty, kteří si vybírají svoji budoucí „almu mater“, pro stát a ostatní subjekty přidělující dotace, pro zaměstnance, bojující za vyšší platy a požadující lepší podmínky, tedy pro všechny vyjmenované a jistě ještě pro

mnoho dalších je důležité vědět, jaká je úroveň té které vysoké školy. Posouzení úrovně se provádí evaluací a její metodika je ve světě velmi dobře propracovaná a všechny výhody i problémy celkem spolehlivě popsány. Jsou státy, kde se evaluuje hodně, někde snad příliš, pak existují státy, kde není oficiální nezávislá a přesně definovaná metodika, ale je i řada států, kde taková metodika vypracována je a léta se již využívá. Společným rysem každé metodiky je, že ti, kteří „vyjdou špatně“, ji kritizují, a ti, kteří dopadnou dobře, ji vynášejí. Nicméně se obecně a v teoretické rovině přijímá fakt, že evaluace je prospěšná a potřebná. Přesto (nebo právě proto) se naše vysoké školy vůbec neevaluují a není nejmenšího náznaku, že by tak chtěly činit v budoucnu – teď myslím na evaluaci jednotnou metodikou, poskytující využitelné výsledky. Opět zde je Akademie věd ČR v náskoku, neboť evaluace provádí pravidelně a při první etapě evaluaci šlo o hodně, neboť se na jejím základě rušily i ústavy. Dnes se ovšem již i v Akademii věd evaluuje jinak. Při poslední evaluaci (účastnil jsem se práce komisi při všech evaluacích s výjimkou jedné) již proces připomínal spíše hru na evaluaci, než vážný akt hodnocení. Přes všechny výhrady by i taková hra na evaluaci vysokým školám mimořádně prospěla. Evaluaci lze dnes udělat s malými náklady a její výsledky mohou být velmi cenné. Na tomto základě se sice dá jen velmi těžko rozlišit mezi špičkovými pracovišti (obtěžně by se takto rozhodovalo, zda je lepší Harvard nebo MIT), ale velmi objektivně lze rozčlenit vysoké školy (i jednotlivé fakulty) mezi např. „čtyři cenové skupiny“. Pravidla pro takové hodnocení jsou jednoduchá a samozřejmá. Kriteria musí být jednoznačná, nesmí se měnit „za pochodu“, a musí být stanovená perioda, kdy se hodnotí na zkoušku – bez hrozby následných sankcí. Takto prováděná evaluace pak nutně vede ke zvýšení kvality hodnocené instituce a její výsledky lze po záběhové periodě použít i pro kvalifikované dělení dotací. Pravidelnou evaluaci si může celkem snadno provádět instituce sama, protože daleko spolehlivější a cennější než absolutní čísla jsou trendy, které lze získat při opakované evaluaci. Tyto trendy jsou průkazné pro dobrý (špatný) vývoj sledované instituce. Je škoda, že naše vysoké školy i jejich součástí tuto ověřenou metodiku zcela ignorují, o MŠMT ani nemluvě. Namísto toho se zcela nesyrově a „bez varování“ využije instrumentu – výzkumných záměrů, který se pro hodnocení kvality vysokých škol a jejich součástí zcela nehodí, už proto, že se týká pouze vědecké práce na vysokých školách.

#### V ý z k u m n é z á m ě r y ( V Z )

VZ vznikly jako forma institucionálního financování vědy, provozované na vysokých školách, v Akademii věd ČR i jinde. Na začátku šlo o snahu ČR vykázat objem financí určených na vědu – šlo tedy spíše o administrativní opatření, které zvýhodnilo instituce vědu provozující. Již na samém začátku bylo jasné, že VZ na vysokých školách

nelze porovnávat s VZ v Akademii věd ČR. Ústavy Akademie věd ČR, které by nezískaly VZ, by bylo nutné zavřít (nebylo by ani na „bazální metabolismus“), což rozhodně neplatí o vysokých školách. V žádném případě nebylo zavedení VZ spojeno se zásadním zvýšením dotací na vědu – to byla pouze dodnes nesplněná vize. Základním problémem VZ je velikost kolektivů a šíře odborného zájmu. Je jistě dobře možné zhodnotit, zda se věda na dané instituci „vůbec dělá“, ale pro jemnější rozlišení kvality jsou VZ příliš velké a obecné. Ale přesně tohoto omylu se MŠMT na sklonku roku 2004 dopustilo zveřejněním výsledků nového kola soutěže o VZ. Nechci nikomu sahat do svědomí, ale zodpovědně tvrdím (a jako odpovědný řešitel jednoho VZ o tom něco málo vím), že zařazení VZ do kategorie A (100% dotace) a B (90% dotace) nemůže být racionálně podloženo. Bohužel totéž by se dalo říci i o některých VZ zařazených do kategorie C (0 % dotace). Spíše se zde projevuje „striktnost“ vybraných oponentů a intenzita lobování nejrůznějšího typu. Vzhledem k tomu, že se zde „hraje“ o částky v řádu desítky milionů Kč (na jeden VZ a rok pro období následujících 5 let), je taková věc velmi na pováženou. Rozhodně takto provedené dělení dotací na vědu provozovanou na vysokých školách není šťastné, tím spíše, že celou věc šlo provést daleko věrohodnějším způsobem.

#### Z á v ě r

Problémy našich vysokých škol jsou veliké, některé jsem shora nastínil. Jsem osobně velmi skeptický k tomu, že naše vysoké školy lze „z gruntu“ reformovat zevnitř. Paradoxně hlavní zábranou je, že se nám na nich žije příliš dobře. Úroveň nejlepších kolektivů na našich vysokých školách patří mezi „slušný světový průměr“ a zaplat' pánbůh za to. Stačilo by však málo – a rozhodně nemám na mysli masivní plošné zvýšení dotací pro naše vysoké školy, které nám na plakátech nedávno sliboval představitel jedné politické strany (která si je patrně zcela jista, že nikdy nebude mít příležitost to uskutečnit). Tedy i tak málo by stačilo, že by to nestálo skoro nic, a přesto by ti nejlepší na našich vysokých školách mohli v horizontu 5–10 let pomýšlet na pozici Švýcarska či Holandska (volím velikostí příbuzné státy), kde některé týmy hrají ve světové vysokoškolské vědě skutečně „první housle“. Bylo by krásné, kdyby sestoupil vysokoškolský archanděl Gabriel či osvícený diktátor a udělal ten pořádek za nás, ve skutečnosti budeme asi postupovat metodou „mírného pokroku v mezích zákona“, což, ve srovnání s tím, co na vysokých školách bylo před 16 lety, nakonec také není tak špatné.

Ivan Stibor

#### LITERATURA

1. Lindovský I.: Akademický Bulletin 2004, 12.

## PRINCIPY A APLIKACE VÍCEROZMĚRNÉ NMR SPEKTROSKOPIE TUHÉHO STAVU V PŘÍRODNÍM IZOTOPOVÉM SLOŽENÍ

JIŘÍ BRUS

Ústav makromolekulární chemie AV ČR, Heyrovského nám. 2, 162 06 Praha 6  
brus@imc.cas.cz

Došlo 15.3.04, přijato 7.7.04.

**Klíčová slova:** NMR tuhé fáze, vícerozměrné experimentální techniky, korelace, přírodní izotopové složení, struktura, dynamika, mezijaderné vzdálenosti

### Obsah

1. Úvod
2. Základní principy a techniky
  - 2.1. Anizotropie jaderných interakcí a vzhled NMR spekter
  - 2.2. Rotace vzorku pod magickým úhlem a techniky rušení spinových interakcí
  - 2.3. Zvýšení citlivosti měření – křížová polarizace (CP)
3. Vícerozměrná NMR
  - 3.1. Heteronukleární experimenty
  - 3.2. Homonukleární experimenty
4. Závěr

### 1. Úvod

V nedávné době a v současnosti se NMR spektroskopie tuhého stavu stále překotně rozvíjí, a to jak na poli technologickém, tak metodickém. V tomto přehledném článku chci čtenáři přiblížit některé experimentální postupy, které umožňují nové pohledy na uspořádání, strukturu a molekulární dynamiku tuhých systémů. Cílem samozřejmě není obsáhnout celou oblast NMR spektroskopie tuhého stavu, ale přinést základní informace poskytující možnost orientovat se v tomto odvětví strukturální analýzy, přičemž detailnější popis současného stavu poskytuje řada obsáhlých přehledných publikací, např.<sup>1–3</sup>.

NMR spektroskopie kapalného stavu, jejíž obrovská výhoda vyplývá z její jedinečné selektivity umožňující rozlišit chemicky rozličné strukturální jednotky, se již stala metodou nepostradatelnou pro charakterizaci celé škály sloučenin (organických, organokovových, anorganických, aj.). V tuhém stavu však chybějící izotropní pohyb molekul působí díky řadě anizotropních interakcí dramatické rozšíření signálů a pokles rozlišení<sup>4</sup>. Přestože získané spektrum je téměř nečitelné, není bezobsažné. Anizotropní

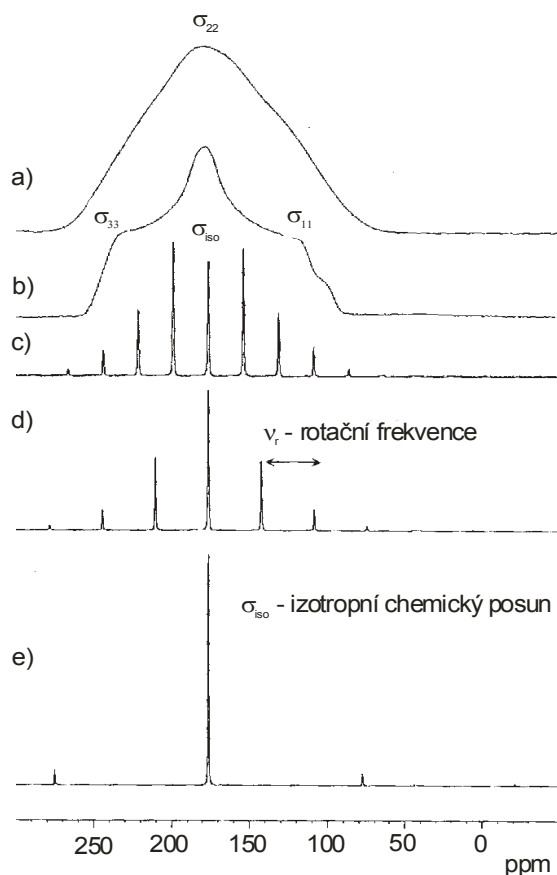
interakce nesou cenné strukturální informace, kterými je však získané spektrum přesyceno. Proto je nutné jejich vliv eliminovat a vhodně separovat. V minulých deseti letech byla vyvinuta řada technik, které v určité fázi NMR experimentu odstraní anizotropní interakce tak, aby je bylo možno vrátit zpět a užít např. k přesnému stanovení mezijaderných vzdáleností, torzních úhlů nebo pro posouzení molekulární dynamiky. Také technické zdokonalení sond umožňujících rotace vzorku pod magickým úhlem (MAS – Magic Angle Spinning) až do frekvencí 25–35 kHz významně usnadnilo získat <sup>1</sup>H NMR spektra s velmi vysokým rozlišením. To v kombinaci s nedávno rozvinutými technikami rušení spinových interakcí umožnilo navrhnout mnoho vícerozměrných korelačních a separačních experimentů<sup>5</sup>. Semikvantitativní a kvantitativní informace o <sup>1</sup>H–<sup>1</sup>H vzdálenostech poskytují velmi slibné dvoukvantové experimenty, umožňující rozlišit vodíkové či π–π interakce. Stanovení morfologie a velikosti jednotlivých složek v heterogenních či nanoheterogenních systémech je téměř rutinním postupem. Abych se vyhnul pouze prostému výčtu jednotlivých technik, zaměřím se v tomto textu pouze na postupy, které nevyžadují izotopové obohacení a jen na okraj se zmíním o technikách NMR spektroskopie tuhého stavu určených k detekci kvadrupólových jader (jader se spinem větším než ½), ačkoli i v této oblasti byl učiněn značný pokrok<sup>6</sup>.

### 2. Základní techniky

Dříve než budou diskutovány jednotlivé experimentální techniky, bude užitečné uvést základní typy jaderných interakcí, které ovlivňují vzhled NMR spekter tuhých látek, tj. anizotropie chemického posunu a dipólní interakce.

#### 2.1. Anizotropie jaderných interakcí a vzhled NMR spekter

<sup>13</sup>C NMR spektrum selektivně značeného glycinu (<sup>13</sup>C=O) poskytuje názorný příklad, na kterém lze demonstrovat vliv anizotropních interakcí (obr. 1a). Je zřejmé, že přímá jednopulsní excitace <sup>13</sup>C jader vede pouze k detekci širokého a beztvareho signálu, který je důsledkem anizotropie jaderných interakcí (v roztocích je tato anizotropie odstraněna velmi rychlým izotropním Brownovým pohybem molekul). Mezi dominantní patří dipól-dipólové interakce, jejichž podstatou je vzájemné působení jaderných magnetických momentů. Protože každý spin představuje jaderný magnetický moment, který produkuje slabé magnetické pole, budou jaderné spiny pociťovat vliv magnetického pole sousedních jader a tím se bude měnit i jejich rezonanční frekvence. Stupeň tohoto ovlivňování je charakterizovaný velikostí dipólní interakční konstanty *D*,



Obr. 1.  $^{13}\text{C}$  NMR spektra selektivně značeného glycinu ( $^{13}\text{CO}$ ); (a) – jednopulsní experiment, (b) – jednopulsní experiment s kontinuálním rušením  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  dipolárních interakcí; (c-e) – jednopulsní experiment s kontinuálním rušením  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  dipolárních interakcí a rotací vzorku pod magickým úhlem 2, 3 a 7 kHz

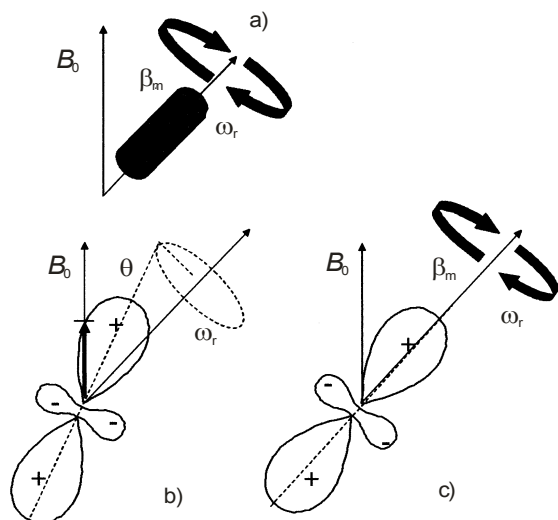
kteřá je přímo úměrná magnetogyrickému poměru  $\gamma$  (proto dominantní roli hrají jádra  $^1\text{H}$  s téměř 100% izotopovým zastoupením a největší hodnotou  $\gamma$ ), klesá s třetí mocninou mezijaderné vzdálenosti (proto je maximální dosah interakcí 0,5–0,6 nm) a závisí na orientaci mezijaderného vektoru vůči směru vnějšího magnetického pole ( $D = 3 \cos^2 \theta - 1$ ). A právě tato orientační závislost vede k velmi omezenému působení dipolárních interakcí v roztocích. Doba setrvání molekuly v jedné orientaci je příliš krátká na to, aby se dipolární interakce vyvinula, tedy aby se dipól-dipólové působení efektivně projevilo. Avšak v práškovém vzorku tuhé látky, který je tvořen řadou náhodně orientovaných krystalitů, zůstává mezijaderný vektor časově neměnný (invariantní), a tak každý krystalit v závislosti na své orientaci přispívá svou specifickou frekvencí k NMR spektru. Obecně rozlišujeme homonukleární interakce mezi jádry stejného typu, obvykle  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ , a heteronukleární působící mezi různými jádry např. mezi  $^1\text{H}$  a  $^{13}\text{C}$  popř.  $^{15}\text{N}$ ,  $^{29}\text{Si}$ .

Vedle dipolárních interakcí je tvar spektra také ovlivněn anizotropií chemického posunu. Původ chemického posunu lze najít v elektronovém obalu daného jádra, ve kterém vnější magnetické pole  $B_0$  (magnetické pole suprařivodivého magnetu o indukci 4,7–21,1 T) produkuje cirkulující proudy, jež indukují velmi malá magnetická pole (milionkrát menší než  $B_0$ ). Ta mění efektivní intenzitu magnetického pole v nejbližším okolí měřeného jádra a tedy i jeho rezonanční frekvenci. Tak lze rozlišit jednotlivé strukturální jednotky (atomy v různých funkčních skupinách či lokálních uskupeních). Anizotropní charakter chemického posunu vyplývá z faktu, že hustota pravděpodobnosti výskytu elektronů kolem jádra není obecně sféricky symetrická. Stupeň, kterým elektronová hustota ovlivní rezonanční frekvenci jádra tak závisí na orientaci elektronového oblaku (tedy i celé molekuly) vůči směru pole  $B_0$ . Anizotropii chemického posunu lze vyjádřit tenzorem druhého řádu, který je v tomto případě reprezentován elipsoidem. V neorientovaných systémech, kde jsou možné všechny orientace, naměříme tzv. práškové spektrum (obr. 1b), které překrývá celý rozsah chemických posunů.

Klíč k odstranění anizotropních interakcí poskytují NMR spektroskopie roztoků, ve kterých rychlý pohyb molekul způsobí, že i velmi asymetrické rozložení elektronů se jeví v časové škále NMR experimentu jako sféricky symetrické. Díky tomu je měřitelný pouze izotropní chemický posun, zatímco dipolární interakce jsou v roztoku neměřitelné.

## 2.2. Rotace vzorku pod magickým úhlem a techniky rušení spinových interakcí

Izotropní pohyb molekul v tuhé fázi lze mechanicky dosáhnout jen velmi těžko, a proto je potřeba použít alternativní přístup. Nyní se pokusíme podat ne zcela přesný, ale snad intuitivně pochopitelný výklad techniky vedoucí k odstranění anizotropní složky tenzoru chemického posunu, která je pro jednoduchost vyjádřena sférickou harmonickou oscilací:  $P_2(\cos \theta) \approx (3 \cos^2 \theta - 1)$  (obr. 2b). Při obecné orientaci anizotropní složky tenzoru chemického posunu svírá jeho hlavní osa s vektorem vnějšího magnetického pole úhel  $\theta$  a měřitelná hodnota anizotropní veličiny odpovídá průniku vektoru vnějšího magnetického pole tímto tenzorem (viz zvýrazněná šipka na obr. 2b). Při rotaci vzorku začne i tenzor chemického posunu rotovat kolem rotační osy a pro dostatečně vysokou frekvenci vznikne časově průměrný a axiálně symetrický tenzor druhého řádu, jehož hlavní osa je shodná s osou rotace (obr. 2c). Pokud osa rotace svírá magický úhel  $\beta_m = 54,7^\circ$  s vektorem magnetického pole a je-li frekvence rotace dostatečně vysoká, pak je anizotropní část tenzoru chemického posunu neměřitelná. Při nízkých frekvencích rotace se původně široký signál rozpadne na sérii rotačních pásů a centrální signál (obr. 1b–e). Pozice rotačních signálů od centrálního odpovídá násobkům frekvence rotace, zatímco poloha centrálního signálu odpovídá izotropnímu chemickému posunu a je tedy neměnná. Tato, dnes zcela běžně používaná, technika rotace vzorku pod magickým úhlem (magic

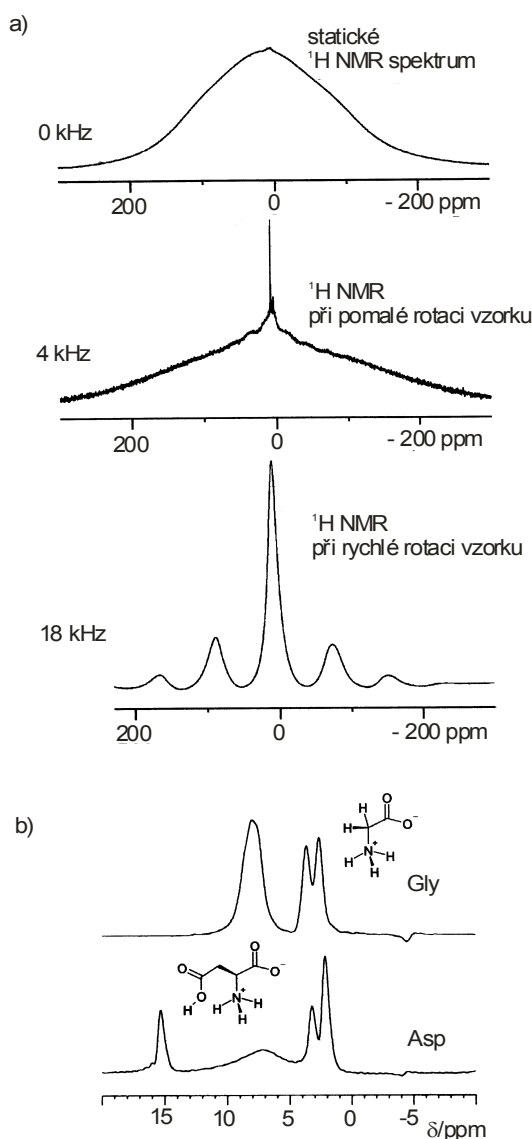


Obr. 2. (a) Schéma orientace rotoru vzhledem k magnetickému poli  $B_0$ ,  $\beta_m$  – úhel svírající osa rotace s vektorem intenzity magnetického pole; (b) Obecná orientace anizotropní složky tenzoru chemického posunu; (c) Časově průměrný tenzor anizotropní složky tenzoru chemického posunu při rychlé rotaci

angle spinning – MAS) byla v 60. letech minulého století úspěšně rozvíjena na Ústavu makromolekulární chemie ve skupině dr. Bohdana Schneidera.

Obdobně lze postupovat i při eliminaci dipolárních interakcí, avšak potřebná frekvence rotace vzorku by musela podstatně převýšit velikost těchto interakcí, jejíž typická hodnota (vyjádřená v Hz) je v chemicky vázaném  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  páru téměř 30 kHz. To je v současnosti ale také maximálně dosažitelná frekvence rotace vzorku. A tak aby se úplně odstranilo působení  $^1\text{H}$  atomů na jádra s nízkým izotopovým zastoupením (např.  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ), je nutno použít ozařování  $^1\text{H}$  spinového systému kontinuálním radiofrekvenčním (rf) polem během detekce signálu. Tato technika rušení dipolárních spinových interakcí (dipolar decoupling – DD) je založena na skutečnosti, že spin vodíku  $^1\text{H}$  s paralelní orientací vzhledem k vnějšímu magnetickému poli působí na frekvenci např.  $^{13}\text{C}$  jádra zcela opačně než spin s orientací antiparalelní. Aplikace radiofrekvenčního pole způsobí velmi rychlé přeskoky mezi těmito orientacemi, tím se časově průměrná orientace  $^1\text{H}$  magnetického momentu blíží nule a tak je vliv dipolárních interakcí odstraněn. Ačkoli je tato technika kontinuálního rušení dipolárních interakcí (continuous wave dipolar decoupling – CW DD) velmi robustní, v poslední době se začíná uplatňovat přístup, zcela běžný v kapalinové NMR spektroskopii. Kontinuální ozařování radiofrekvenčním polem je nahrazeno sérií krátkých fázově posunutých rf pulsů, které obvykle nejsou synchronní s frekvencí rotace<sup>7</sup>, což vede k větší účinnosti rušení dipolárních interakcí zvláště při vysokých rotacích vzorku a v důsledku toho k detekci NMR spekter vysokého rozlišení (obr. 1b–e).

Tento postup ale nelze přímo užít při měření  $^1\text{H}$  NMR spekter tuhých látek, která jsou zcela rutinní součástí základní charakterizace struktury řady sloučenin v roztoku. Výjimečné postavení  $^1\text{H}$  jader vyplývá z jejich téměř 100% přirozeného izotopového zastoupení a velmi vysokého magnetogyrického poměru  $\gamma = 26,8 \text{ rad}\cdot\text{T}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ , což je přesně ta kombinace, která měření  $^1\text{H}$  NMR spekter v tuhém stavu komplikuje. Prostá rotace vzorku pod magickým úhlem vede jen k omezenému zužování signálů (obr. 3a). Existuje však alternativní přístup, který je podobně jako již uvedený heteronukleární dipolární „dekuplink“ (CW DD) založený na ozařování vzorku radiofrekvenčním polem. Toto pole však nemůže být konti-

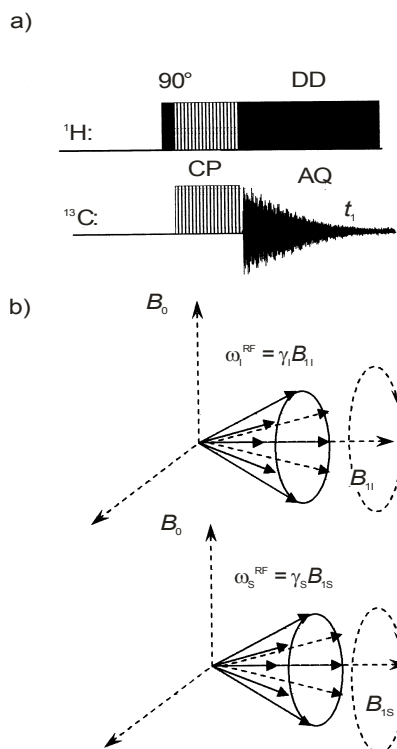


Obr. 3. (a)  $^1\text{H}$  MAS NMR spektra glycinu měřená při různých frekvencích rotace; (b)  $^1\text{H}$  CRAMPS spektrum glycinu a kyseliny asparťové

nuální, ale musí obsahovat prodlevy, v nichž lze NMR signál detekovat. Podstatou nejjednodušší techniky je multipulsní ozařování vzorku, které je rozděleno do mnoha opakujících se cyklů<sup>8</sup>. Každý cyklus se skládá ze čtyř velmi krátkých 90° pulsů, které jsou fázově posunuty a odděleny velmi krátkými prodlevami („okny“),  $\tau$  nebo  $2\tau$ . Na konci každého tohoto cyklu je zaznamenán jeden bod NMR signálu, protože v tento okamžik se spinový systém vyvíjí pouze podle chemického posunu, zatímco  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  dipolární interakce je potlačena. Toto snímání NMR signálu se musí mnohokrát opakovat (snímá se až několik tisíc bodů), takže výsledkem je tzv. stroboskopická detekce. Působení multipulsní sekvence si lze představit tak, že během ozařování vzorku již neprobíhá precese spinů kolem vektoru vnějšího magnetického pole  $B_0$  (v rovině  $x$ - $y$ ), ale spiny rotují pod magickým úhlem ve spinovém prostoru. V kombinaci s MAS lze následně získat  $^1\text{H}$  NMR spektra s velmi vysokým rozlišením (obr. 3b). Na obdobném principu pracují nedávno rozpracované techniky mimoroznanného ozařování (FSLG – frequency switched *Lee-Goldburg*)<sup>9</sup>, jež v sobě nemají zabudovaná detekční okna, a tak protonová magnetizace musí být detekována nepřímo užitím dvourozměrných (2D) experimentů<sup>5,10</sup>.

### 2.3. Křížová polarizace (Cross-Polarization CP)

Přímé (jednopulsní) měření spektrálně vysoce rozlišených NMR spekter jader s nízkým magnetogyrickým poměrem a nízkým izotopovým zastoupením (tzv. řídká jádra, jako jsou např.  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{29}\text{Si}$ ,  $^{119}\text{Sn}$  atd.) je však časově velmi náročné, neboť k dosažení příznivého poměru signál-šum je potřeba provést velký počet akumulací NMR signálu. Rychlost opakování, která je určena rychlostí návratu spinového systému po vybuzení do termodynamické rovnováhy, tedy rychlostí relaxace, je však velmi pomalá. A tak doba mezi jednotlivými excitacemi může být až stovky sekund, v některých případech i desítky minut. Pro překonání těchto obtíží lze však využít spinový systém jader s velkým magnetogyrickým poměrem a vysokým izotopovým zastoupením (tzv. hojná jádra např.  $^1\text{H}$  nebo  $^{19}\text{F}$ ). Jejich vysoká polarizovatelnost podstatně zvyšuje citlivost NMR experimentu, přičemž i rychlost jejich relaxace je mnohem příznivější, obvykle se pohybuje v intervalu 1–10 s. Abychom mohli alespoň částečně využít těchto vlastností, je potřeba nějakým způsobem přenést polarizaci z izotopově hojných jader do spinového systému jader izotopově řídkých, k čemuž slouží technika zvaná křížová polarizace (cross-polarization – CP, cit.<sup>11</sup>). Pokud jsou oba spinové systémy v tzv. „dipolárním kontaktu“, odtéká magnetizace během křížové polarizace z vysoce polarizovaných jader na jádra s nízkou polarizovatelností, obdobně jako teplo teče z horkého objektu do studeného, jsou-li oba objekty tepelně propojené. Tento přenos magnetizace probíhá při spinové výměně tzv. překlopnými přechody (flip-flop transitions), kdy celková energie systému je konzervována. Tento přechod lze chápat tak, že ve stejný okamžik dojde k současné změně orientace dvou vzájemně dipolárně interagujících spinů: ze stavu  $\uparrow\downarrow$  do



Obr. 4. (a) Blokové znázornění CP pulsní sekvence; (b) Schématické znázornění orientace uložení a rotace jaderných spinů  $I$  ( $^1\text{H}$ ) a  $S$  ( $^{13}\text{C}$ ) během dipolárního kontaktu

stavu  $\downarrow\uparrow$ . Během tohoto experimentu jsou po počáteční polarizaci  $^1\text{H}$  spinů na oba dva spinové systémy ( $^1\text{H}$  a např.  $^{13}\text{C}$ ) současně aplikována dvě radiofrekvenční pole. Intenzity obou polí musí být takové, aby rotace obou spinů (např. rychlost sklápění měřitelné magnetizace obou typů jader při pulsu ze směru osy  $z$  do roviny  $x$ - $y$ ) byly shodné

$$\omega_{1\text{H}}^{\text{rf}} = \gamma_{1\text{H}} B_{1\text{H}} = \gamma_{13\text{C}} B_{1\text{C}} = \omega_{13\text{C}}^{\text{rf}}$$

kde  $B$  je amplituda (intenzita) použitého radiofrekvenčního pole; obr. 4. Za tohoto stavu je splněna tzv. Hartmannova-Hahnova podmínka, čímž je ustaven dipolární kontakt mezi oběma systémy.

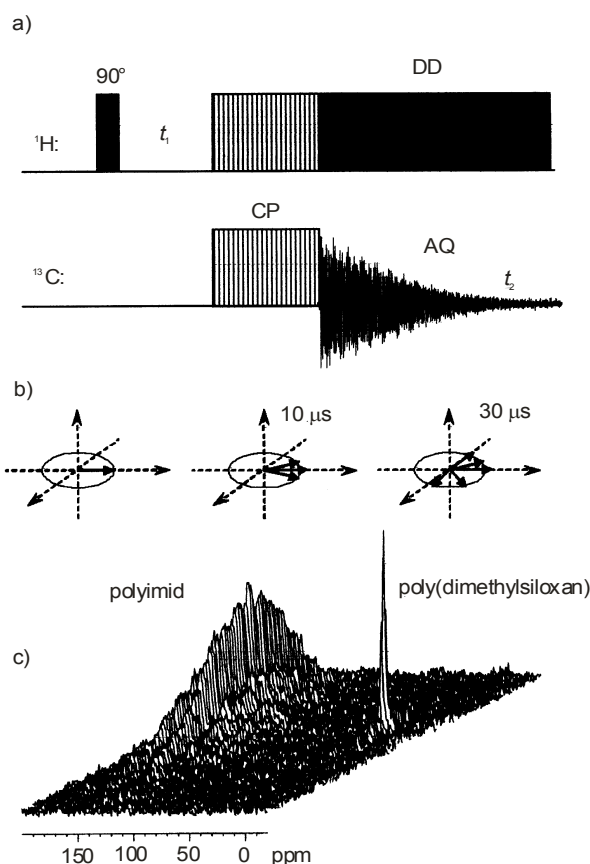
### 3. Vícerozměrná NMR

V předchozích kapitolách byly uvedeny základní techniky NMR spektroskopie tuhého stavu, které vedou k získání jednorozměrného (1D) NMR spektra, ve kterém převládá informace o izotropním chemickém posunu. Bylo však také řečeno, že odstranění anizotropních interakcí je doprovázeno ztrátou řady strukturních informací. A tak je zřejmé, že navržení experimentálních technik, které umožní separaci nebo korelaci izotropních a anizotropních informací, je velmi cenné. Základem těchto experimentál-

ních postupů je dvourozměrná (2D) NMR spektroskopie, která je nedílnou součástí moderních NMR technik roztoků. Zde se měření dvourozměrných a třírozměrných spekter stalo nezbytnou nutností, která podstatně zvyšuje spektrální rozlišení a přináší řadu nových informací. Stejně důvody platí i pro vícerozměrnou NMR spektroskopii tuhých látek.

### 3.1. Heteronukleární experimenty a jejich aplikace

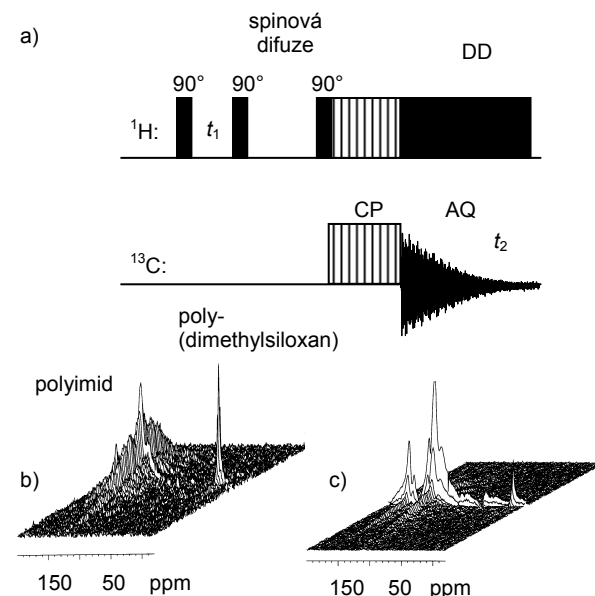
Typickým příkladem heteronukleárního 2D experimentu je technika separace širokých signálů<sup>4</sup> (obr. 5a), kdy se během první detekční periody  $t_1$  protonová transverzální magnetizace vyvíjí pod vlivem dominantních homonukleárních  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  dipolárních interakcí. To vede k rychlému rozfázování precese  $^1\text{H}$  spinů (ztrátě fázové koherence, viz obr. 5b), přičemž rychlost rozfázování je přímo úměrná velikosti dipolárních interakcí. V důsledku toho se zmenšuje výsledná složka protonové magnetizace, kterou lze přenést během křížové polarizace do  $^{13}\text{C}$  spinového systému. Intenzita signálů v  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR spektru je tak závislá na velikosti  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  dipolárních interakcí.



Obr. 5. (a) 2D  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  WISE pulsní sekvence; (b) dipolární rozfázování  $^1\text{H}$  magnetizace během periody  $t_1$ ; (c) 2D spektrum blokového kopolymery polyimid-poly(dimethylsiloxan)

S postupně se prodlužující periodou  $t_1$  získáme sérii  $^{13}\text{C}$  NMR spekter s klesající intenzitou signálů. Tuto sérii lze považovat za jakýsi interferogram, a tak Fourierovou transformací poklesu intenzity NMR signálů získáme 2D NMR spektrum, kde v jedné dimenzi jsou uhlíkové atomy charakterizované  $^{13}\text{C}$  NMR izotropním chemickým posunem a v druhé dimenzi více či méně širokým  $^1\text{H}$  NMR signálem (obr. 5c). Protože velikost homonukleárních dipolárních interakcí klesá s rostoucím molekulárním pohybem, šířka  $^1\text{H}$  signálů odráží segmentovou dynamiku. Rigidní strukturální jednotky jsou charakterizované širokými  $^1\text{H}$  signály, zatímco pohyblivé segmenty se projeví úzkými pásy, jako je tomu v 2D NMR spektru blokové polymerní sítě polyimidu a poly(dimethylsiloxanu). Je zcela jasně patrné, že vysoká pohyblivost poly(dimethylsiloxanových) řetězců neovlivňuje dynamiku druhé složky<sup>12</sup>. Tímto způsobem lze snadno posoudit segmentovou dynamiku řady polymerních systémů, především polymerních směsí (např. polykarbonát – poly(ethylenoxid), polystyren – poly(vinylmethakrylát) atp.), nebo u částečně krystalických materiálů (např. polyetylen, poly(ethyleoxid) atp.), kde amorfní (obecně pohyblivá) složka je jasně detekována v podobě úzkého  $^1\text{H}$  signálu.

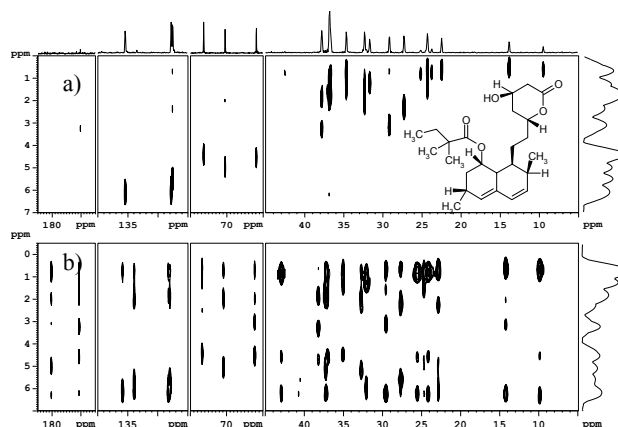
Rozdíly v lokální pohyblivosti rozdílných složek ve studovaném systému lze také využít ke stanovení velikosti domén obou komponent, neboť díky spinové difuzi, která může probíhat během směšovací periody (obr. 6a) se informace o pohybovém zúžení protonového signálu šíří přes prostor do rigidní fáze, a to rychlostí úměrnou  $1/r_{ij}^3$ . (Spinová difuze je koherentní přenos  $^1\text{H}$  magnetizace výše



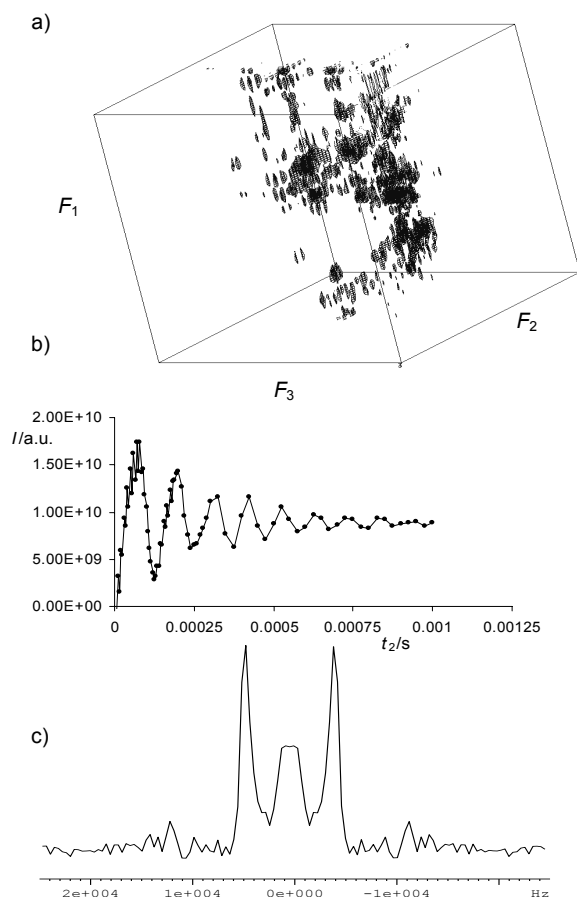
Obr. 6. (a) – Blokové znázornění 2D  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  WISE pulsní sekvence se spin-difúzní periodou; (b) – 2D spektrum blokového kopolymery polyimid-poly(dimethylsiloxan) změřené při směšovací periodě  $t_m = 0,5\ \text{ms}$ ; a (c) – při směšovací periodě  $t_m = 10\ \text{ms}$

zmiňovanými překlopnými přechody.) Při delší směšovací periodě nastane štafetový přenos polarizace do vzdálenějších oblastí a původně široký protonový signál rigidní komponenty bude tvořen superpozicí širokého a úzkého signálu<sup>12</sup> (obr. 6b a c). Postupný nárůst intenzity úzké složky pak obsahuje požadované informace o velikosti domén a morfologii systému, které lze získat analýzou této závislosti. Tato technika je zvláště výhodná pro určení velikosti domén v heterogenních systémech, kde velikost dispergovaných složek je v intervalu 1–20 nm. Nejčastěji je tato technika použita pro posouzení mísitelnosti polymerních směsí, kdy rychlý přenos magnetizace naznačuje velmi intímní molekulární promísení, zatímco pomalý proces odráží přítomnost rozměrných heterogenit. Detailní simulace procesu spinové difuze také umožní posoudit morfologii studovaného systému a rozlišit lamelární, cylindrické, sférické nebo i bikontinuální uspořádání, přičemž jemné odchylky od teoretického modelu mohou naznačit vznik komplikovaných útvarů na fázovém rozhraní<sup>3,12,15</sup>. Procesu spinové difuze se také mohou účastnit vnější <sup>1</sup>H spiny, které nejsou přímo chemicky vázané ke studované látce např. molekuly vody<sup>13</sup>. A tak sledování propagace úzké složky signálu v 2D spektru slouží k získání informace o relativní poloze interagující vody a velikosti případných klastrů molekul H<sub>2</sub>O. Tento přístup byl použit pro posouzení distribuce vody v silikagelech, popis velikosti jejich rezervoárů v novém i historickém papíru, či k určení její pozice v buněčné stěně.

Pro výše uvedené techniky bylo typické, že nositelem jedinečných informací o struktuře a dynamice tuhých látek je <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H dipolární interakce. Ačkoli byly použity 2D experimenty, spektrální rozlišení se podstatně nezvýšilo. K tomu a pro získání informace o <sup>1</sup>H chemickém posunu musí být <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H dipolární interakce aktivně rušeny během první detekční periody  $t_1$  použitím některé z technik zmíněných v kapitole 2.2. Díky tomu se <sup>1</sup>H spinový systém začne vyvíjet pouze pod vlivem <sup>1</sup>H chemického posunu a výsledkem je standardní heteronukleární korelační spektrum<sup>5</sup>. Na rozdíl od analogických experimentů provedených v roztoku, které korelují jádra poutaná jednou nebo několika kovalentními vazbami, většina korelačních experimentů v tuhé fázi umožňuje korelaci všech prostorově blízkých jader, tedy i chemicky nevázaných. Signály v 2D spektru indikují všechny prostorově blízké spinové páry např. <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C, přičemž vzdálenost, odkud je <sup>1</sup>H polarizace přenesena, je řízena délkou křížové polarizace. Pro krátké trvání křížové polarizace dojde k přenosu jen z nejbližšího okolí a korelovat lze především přímo vázané <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C páry (obr. 7a), zatímco pro delší dobu křížové polarizace je sledován vznik dalších korelačních signálů, které odrážejí přenos magnetizace na mnohem delší vzdálenosti, až 4,8–5,0 Å (obr. 7b). Tím je možno nahlédnout do lokální struktury, konformace a rozložení atomů v molekule, přičemž nedávno byl tímto způsobem vypracován model uspořádání molekul v systému chlorofyl A/H<sub>2</sub>O. Pro získání exaktních informací však musíme 2D experiment rozšířit na trojrozměrný, a to diskretním prodlužováním doby přenosu polarizace (obr. 8a). Výsledek tohoto experimentu po dvou



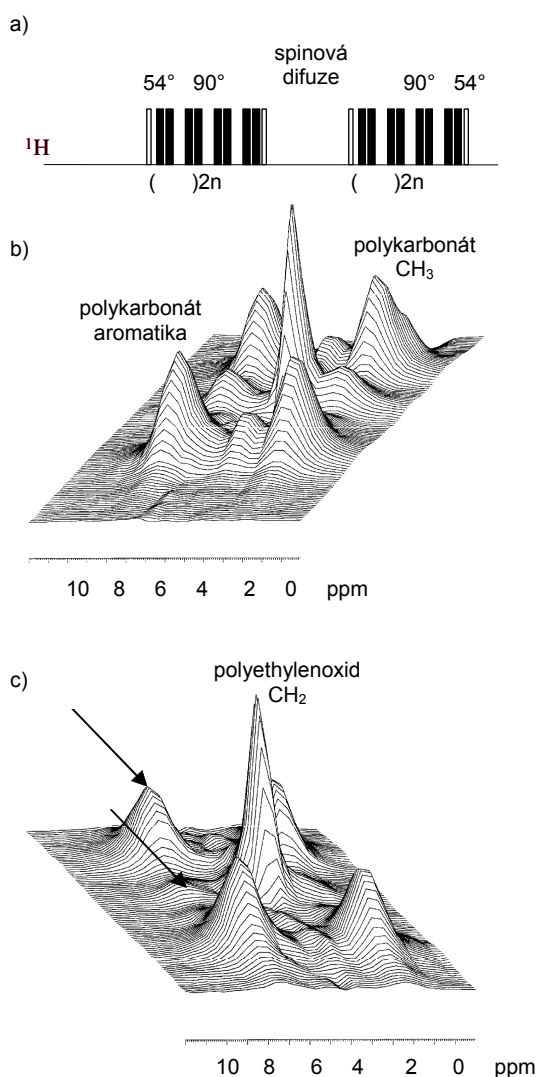
Obr. 7. Struktura látky a odpovídající 2D HETCOR spektra měřená (a) při CP = 100ms a (b) 2 ms



Obr. 8. (a) 3D <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HETCOR spektrum; (b) závislost intenzity signálů 2D spektra na délce CP periody; (c) odpovídající dipolární spektrum



Fourierových transformací (v  $t_1$  a  $t_3$ ) je série 2D heteronukleárně korelačních spekter, přičemž intenzita signálů během periody  $t_2$  osciluje pod vlivem  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  dipolární interakce (obr. 8b). Fourierovou transformací této oscilace získáme  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  dipolární spektrum (obr. 8c), ve kterém velikost štěpení odpovídá velikosti dipolární interakční konstanty, a tím i mezijaderné vzdálenosti  $D \approx 1/r^3$ . A zde je již naznačen obrovský potenciál NMR spektroskopie tuhého stavu, jež v blízké budoucnosti zřejmě umožní popsání úplné struktury mikrokrytalických a dobře uspořádaných systémů bez nutnosti izotopového obohacení.



Obr. 9. (a) Blokové schéma 2D  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  CRAMPS NMR pulsni sekvence; (b) odpovídající 2D NMR spektra změřená pro směs polykarbonát a poly(ethylenoxid) při délce směšovací periody  $t_m = 10$  ms; a (c)  $t_m = 0,25$  ms

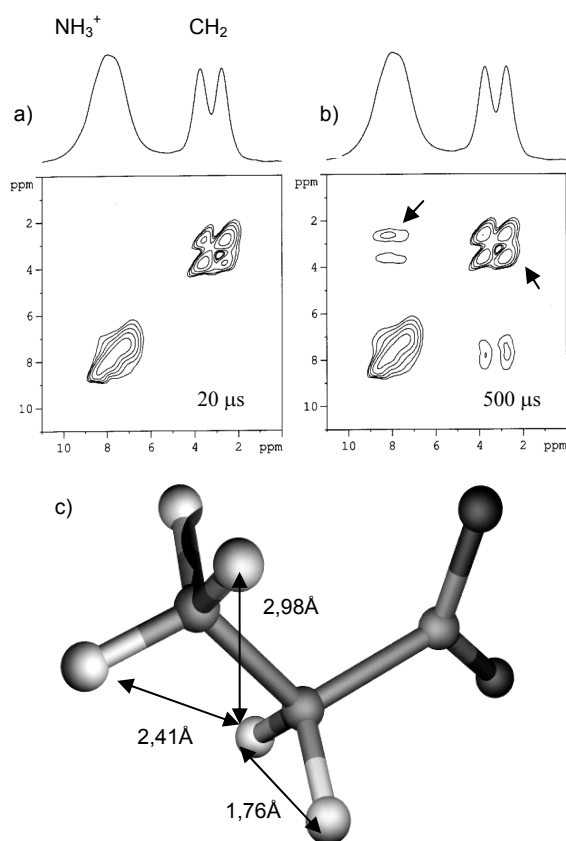
### 3.2. Homonukleární experimenty a jejich aplikace

Experimenty zmiňované v předchozí kapitole je tedy možno provádět u vzorků s přirozeným izotopovým zastoupením, přičemž s jádry  $^1\text{H}$  lze korelovat nejenom  $^{13}\text{C}$ , ale i  $^{15}\text{N}$ ,  $^{29}\text{Si}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{119}\text{Sn}$  atp. Ovšem bez nutného obohacení vzorku lze provádět homonukleární korelační experimenty pouze s několika málo izotopy, které mají dostatečně vysoké přirozené zastoupení ( $^1\text{H}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{31}\text{P}$ ). První homonukleární  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  korelační a vůbec 2D experiment v kapalně fázi byl navržen již v roce 1971 a od té doby se tento typ experimentů stal rutinní součástí strukturální analýzy. Ekvivalentní technika pro tuhou fázi byla poprvé uvedena v roce 1985 a původně byla díky relativně malému spektrálnímu rozlišení navržena pouze pro posouzení stupně mísitelnosti polymerních směsí<sup>14</sup>, protože jejich  $^1\text{H}$  NMR spektrum je relativně jednoduché. Avšak vysoké nároky na stabilitu spektrometru neumožnily široké využití této techniky. Při tomto experimentu se NMR signál snímá během dvou detekčních period  $t_2$  a  $t_1$ , které odpovídají homonukleární pulsni sekvenci, která zároveň ruší silné  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  dipolární interakce (obr. 9). Během směšovací periody dochází ke spinové difuzi, kdy se magnetizace postupně šíří přes prostor a vyměňuje se mezi jednotlivými složkami systému. Tato výměna je indikována mimodiagonálními signály, přičemž jejich intenzita odráží rychlost spinové difuze.

Intenzita mimodiagonálních signálů nejprve vzrůstá s prodlužující se dobou směšovací periody a po určité době je dosaženo rovnováhy a intenzita signálů je dále konstantní. Z této rychlosti lze pak stanovit velikost domén jednotlivých složek v heterogenním systému obdobným způsobem, jak bylo uvedeno v předchozí kapitole. Výhodou tohoto typu experimentu je, že můžeme posoudit velikost domén všech složek v systému, které lze spektrálně rozlišit, přičemž rozdílná pohyblivost již není podmínkou. Typickým příkladem je směs polykarbonátu a poly(ethylenoxidu) (PC-PEO, obr. 9, cit.<sup>15</sup>). Rychlé dosažení rovnovážné intenzity signálu (po 250  $\mu\text{s}$ ), který koreluje aromatické a methylové protony v molekule polykarbonátu, odpovídá jejich vzájemné prostorové blízkosti a poskytuje vnitřní kalibrační standard. Rovnovážné intenzity signálů korelujících poly(ethylenoxid) a polykarbonát je však dosaženo mnohem později (desítky milisekund), což svědčí o přítomnosti útvarů o velikosti několika desítek nm.

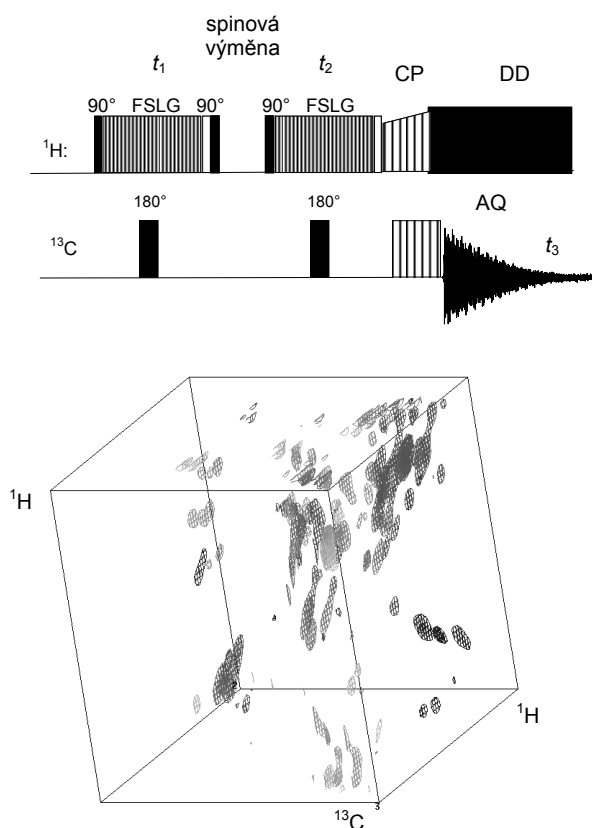
Touto technikou byla studována řada polymerních systémů, různých polymerních i nepolymerních komplexů, formování hydroxylových klastrů v siloxanových sítích<sup>16</sup> a v neposlední řadě se ukázalo, že při dostatečném spektrálním rozlišení lze přesně měřit i  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  mezijadernou vzdálenost<sup>17</sup>. Na obr. 10 jsou jasně patrné rozdíly v intenzitách mimodiagonálních signálů, které reflektují vzdálenost mezi neekvivalentními atomy  $^1\text{H}$  ve skupině  $\text{CH}_2$  a vzdálenost mezi  $\text{CH}_2$  a  $\text{NH}_3^+$  protony v molekule glycinu<sup>17</sup>.

Přesto však nedostatečné spektrální rozlišení v  $^1\text{H}$  dimenzi významně omezuje možnost využití těchto  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$



Obr. 10. (a) 2D  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  NMR spektra glycinu při délce směšovací periody  $t_m = 20$  ms; (b) a  $t_m = 50$  ms; (c) naznačené mezijaderné vzdálenosti

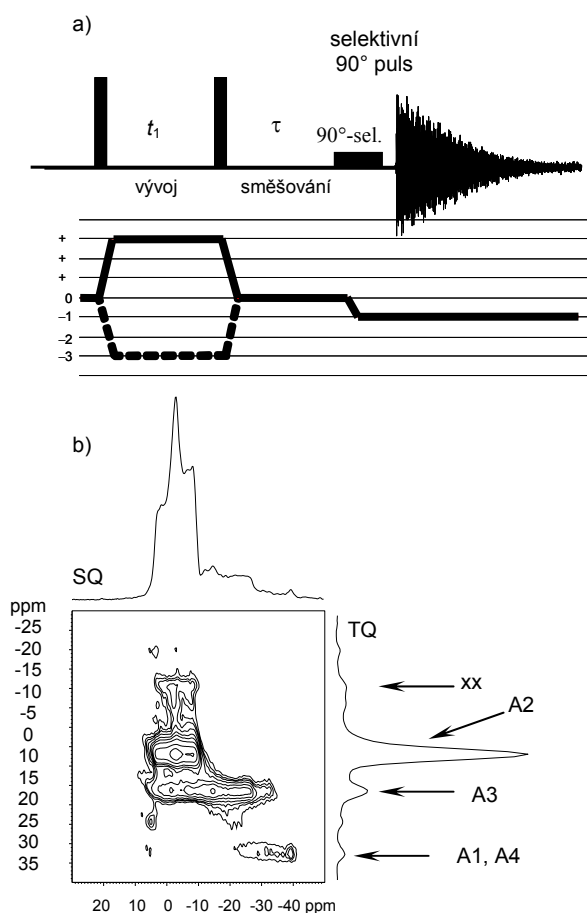
korelačních experimentů pro popis struktury složitých molekul a makromolekul. Proto je otázka zvýšení spektrálního rozlišení velmi aktuální, zvláště pokud chceme získat detailní a přesné informace o proton-protonových vzdálenostech ve složitějších systémech. Nabízí se však poměrně elegantní modifikace výše uvedeného 2D  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  korelačního experimentu, kdy za druhou detekční periodu umístíme křížovou polarizaci, kterou se přenese magnetizace do uhlíkového spinového systému<sup>18</sup>. V tomto případě se  $^1\text{H}$  signál snímá v obou vývojových periodách nepřímou, a tak lze s výhodou užít kontinuální techniky rušení  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  dipolárních interakcí např. FSLG (Frequency-switched Lee-Goldburg) sekvencí (viz. obr. 11). Výsledkem je pak 3D spektrum, které lze chápat jako sérii 2D  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  korelačních spekter, získaných selektivně pro každou  $^{13}\text{C}$  strukturální jednotku, kterou lze rozlišit v  $^{13}\text{C}$  NMR spektru. V principu tak můžeme získat informace o prostorovém rozložení atomů vodíku v okolí každého rozlišeného a definovaného atomu  $^{13}\text{C}$ . Ovšem zvýšení selektivity experimentu a lepší rozlišení je zapláceno extrémním prodloužením celkové doby měření. Jedno 2D  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  korelační spektrum lze získat ve velmi dobré kvalitě během několika málo hodin (do 2 h). Získání 3D spektra v obdobné



Obr. 11. Blokové schéma 3D  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  NMR pulsní sekvence a typické 3D spektrum

kvalitě však trvá více než 48 hodin, protože pro získání informací o mezijaderné vzdálenosti je potřeba měřit sérii alespoň deseti spekter při různé době spinové difuze. To znamená, že jednodenní experimentování se protáhne na téměř jeden měsíc. Využití tohoto typu experimentu pro látky s přírodním izotopovým zastoupením je tedy omezeno na poměrně malé molekuly (oligopeptidy)<sup>18</sup> nebo vysoce uspořádané krystalické systémy. Nicméně pro látky, jež obtížně poskytují krystaly vhodné k RTG difrakci, je to jedna z mála možností, jak alespoň částečně popsat jejich strukturu.

Avšak nejenom jádra se spinem  $\frac{1}{2}$  lze využít pro získání cenných strukturálních informací. Je třeba si uvědomit, že kvadrupólových jader s větším spinem ( $^6\text{Li}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{23}\text{Na}$ ,  $^{27}\text{Al}$ ,  $^{87}\text{Rb}$  atd.) lze v přírodě nalézt mnohem více, přičemž jejich význam je značný především pro strukturální studie anorganických materiálů – minerálů, zeolitů, skel atp. Na rozdíl od předchozích případů vzájemné působení jaderného spinu a gradientu elektrického pole, tzv. kvadrupólová interakce, vede k zneprůhlednění spekter. Existuje však jednoduchá 2D technika, která umožňuje částečně separovat kvadrupólovou interakci do jednoho rozměru, zatímco ve druhém převládá izotropní chemický posun.



Obr. 12. (a) Blokové schéma tříkvantového 2D experimentu; (b) výsledné 2D TQ/SQ  $^{27}\text{Al}$  MAS NMR spektrum kyanitu měřeného při 13 kHz

Podstatou tohoto experimentu (obr. 12a) je excitace a nepřímá detekce tříkvantové koherence (TQ), která se následně převede na přímo sledovatelnou jednovantovou koherenci (SQ). To umožní separovat kvadrupólovou interakci od chemického posunu, neboť obě tyto jaderné interakce se při jednovantových a vícekvantových přechodech vyvíjejí rozdílnou rychlostí (obecně je velikost kvadrupólové interakce vzhledem k chemickému posunu relativně jiná při vícekvantových přechodech než při přechodech jednovantových). Výsledkem je 2D spektrum, ve kterém se koreluje tříkvantové a jednovantové signály. V případě minerálu kyanitu  $\text{Al}_2\text{SiO}_5$  (obr. 12b) lze rozlišit 4 základní, krystalograficky různé, strukturální jednotky  $\text{AlO}_6$ . Analýza 1D  $^{27}\text{Al}$  MAS NMR spektra, kterému odpovídá jednovantová projekce (SQ, obr. 12b) je prakticky nemožná. Ovšem tříkvantová (TQ) projekce poskytuje podstatně lepší spektrální rozlišení a umožňuje detekci základních strukturálních jednotek A1 a A4 – 34 ppm, A3 – 17 ppm a A2 – 8 ppm a také přítomnost dalších minerálů

v dané hornině (signál s chemickým posunem – 10 ppm). Tato technika se dnes stala téměř nepostradatelnou při popisu struktury aktivních center zeolitů nebo uspořádání hlinitokřemičitanových polymerů.

#### 4. Závěr

V tomto článku jsem se pokusil uvést některé současné trendy NMR spektroskopie tuhého stavu, které poskytují odpovědi na otázky týkající se struktury a dynamiky molekul a makromolekul, jež jsou podstatné pro moderní chemii. Zvláště rozvoj  $^1\text{H}$  MAS NMR technik vysokého rozlišení umožnil přímé studium vodíkových vazeb,  $\pi$ - $\pi$  interakcí nebo stanovení  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  mezijaderné vzdálenosti, aniž potřebně množství studované látky převyšuje 25–30 mg, či vyžaduje selektivní izotopové značení nebo úplné obohacení. Navíc se aplikace neomezuji jen na uvedené příklady, ale mají obecné využití. Je však nutné zmínit, že obohacení látky daným izotopem nebo izotopy otevírá další možnosti strukturálního studia. Existuje celá řada experimentálních postupů (REDOR, dvojité CP atd.) umožňujících korelační experimenty mezi různými typy jader (např.  $^{13}\text{C}$  a  $^{15}\text{N}$ , cit. 19), které však kvůli neúměrnému prodloužení tohoto příspěvku nemohly být uvedeny. Navíc jsem se jen okrajově dotkl technik, které se věnují jádrům se spinem větším než  $\frac{1}{2}$ , tedy kvadrupólovým jádrům jako jsou např.  $^{27}\text{Al}$ ,  $^{23}\text{Na}$  nebo  $^{43}\text{Mn}$ . 2D multikvantové (MQMAS) experimenty<sup>20</sup> umožňují separovat izotropní chemický posun a kvadrupólové štěpení druhého řádu a tak tedy zjistit velikost a asymetrii gradientu elektrického pole v okolí každé rozlišené pozice, což je významná strukturální informace pro řadu minerálů, katalyzátorů na bázi zeolitů nebo anorganických skel.

Moderní NMR spektroskopie tuhého stavu by však neměla být považována za metodu nahrazující RTG difrakční analýzu. Spíše jde o komplementární metody, které se vhodně doplňují především tam, kde je obtížné získat monokrystal, kde relevantní informaci poskytují pouze  $^1\text{H}$  jádra nebo kde významnou roli hraje segmentová dynamika. V těchto případech je výhodné kombinovat i další metody jako je např. DSC (diferenční skanovací kalorimetrie) poskytující informace o teplotách případných fázových přechodů<sup>21</sup>. Znalost tepelné stability vzorku je velmi žádoucí, neboť při vysokých rotacích se vzorek významně zahřívá. Moderní NMR spektroskopie tuhého stavu však nevyužívá jen velmi pokročilých experimentálních postupů, ale její potenciál je také v kombinaci s teoretickým přístupem. Současné *ab initio* výpočty chemických posunů jsou již dostatečně přesné, aby poskytovaly přesné strukturální informace<sup>22</sup>. Dnes jsme svědky překotného technologického a metodického rozvoje NMR tuhého stavu. Každým dnem se objevují nové experimentální postupy vedoucí k přesnějším strukturálním informacím a lze tedy předpokládat, že v budoucnosti bude tato technika schopna podávat obdobné informace o 3D struktuře jako NMR roztoků, což již bylo nedávno demon-

strováno na příkladu SH<sub>3</sub> domény  $\alpha$ -spektrinu<sup>23</sup>.

*Tato práce vznikla za vydatné podpory Grantové agentury Akademie věd České republiky (číslo grantového projektu B4050203).*

#### LITERATURA

1. Brown S. P., Spiess H. W.: *Chem. Rev.* **101**, 4125 (2001).
2. Laws D. D., Bitter H. M. L., Jerschow A.: *Angew. Chem. Int. Ed.* **41**, 3096 (2002).
3. Brus J., Petříčková H., Dybal J.: *Monatsh. Chem.* **133**, 1587 (2002).
4. Schmidt-Rohr K., Spiess H. W.: *Multidimensional Solid-State NMR and Polymers*, Academic Press 1994.
5. van Rossum B. J., Foerster H., De Groot H. J. M.: *J. Magn. Reson.* **124**, 516 (1997).
6. Frydman L., Harwood J. S.: *J. Am. Chem. Soc.* **117**, 5367 (1995).
7. Ernst M.: *J. Magn. Reson.* **162**, 1 (2003).
8. Waugh J. S., Huber L. M., Haeberlen U.: *Phys. Rev. Lett.* **20**, 453 (1968).
9. Bielecki A., Kolbert A. C., Levitt M. H.: *Chem. Phys. Lett.* **155**, 341 (1989).
10. Lesage A., Duma L., Sakellariou D., Emsley L.: *J. Am. Chem. Soc.* **123**, 5747 (2001).
11. Pines A., Gibby M. G., Waugh J. S.: *J. Chem. Phys.* **59**, 569 (1973).
12. Brus J., Dybal J., Sysel P., Hobzová R.: *Macromolecules* **35**, 1253 (2002).
13. Brus J.: *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **25**, 17 (2002).
14. Caravatti P., Neuenschwander P., Ernst R. R.: *Macromolecules* **18**, 119 (1985).
15. Brus J., Dybal J., Schmidt P., Kratochvíl J., Baldrian J.: *Macromolecules* **33**, 6448 (2000).
16. Brus J., Dybal J.: *Macromolecules* **35**, 10038 (2002).
17. Brus J., Petříčková H., Dybal J.: *Solid State NMR* **23**, 183 (2003).
18. Sakellariou D., Lesage A., Emsley L.: *J. Am. Chem. Soc.* **123**, 5604 (2001).
19. Gullion T., Schaefer J.: *J. Magn. Reson.* **81**, 196 (1989).
20. Medek A., Harwood J. S., Frydman L.: *J. Am. Chem. Soc.* **117**, 12779 (1995).
21. Brown S. P., Schnell I., Brand J., Mullen K., Spiess H. W.: *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2**, 1735 (2000).
22. Heller J., Laws D. D., Tomaselli M., King D. S., Wemmer D. E., Pines A., Havlin R. H., Oldfield E.: *J. Am. Chem. Soc.* **119**, 7827 (1997).
23. Castellani F., van Rossum B. J., Diehl A., Schubert M., Rehbein K., Oschkinat H.: *Nature* **420**, 98 (2002).

**J. Brus** (*Institute of Macromolecular Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*): **Principles and Applications of Multidimensional NMR Spectroscopy of Solid State of Natural Isotope Abundance**

The review is devoted to current trends in modern solid-state NMR spectroscopy, which provide detailed information about structure and segmental dynamics of various systems of natural isotope abundance. Basic experimental techniques involving magic angle spinning (MAS) and several heteronuclear and homonuclear decoupling sequences leading to suppression of chemical shift anisotropy and dipolar interactions are briefly introduced. Recent results concerning the application of 2D heteronuclear and homonuclear correlation experiments to investigation of synthetic materials (predominantly polymers) are described. The abilities of two-dimensional <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H spin-exchange and <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C heteronuclear correlation techniques to characterize structure of organic solids and morphology of polymer blends as well as their limitations resulting from segmental mobility and undesired coherence transfer are discussed. Possibilities to precisely measure interatomic distances and determine domain sizes in heterogeneous systems are discussed. Although most of the presented techniques were originally designed for nuclei with spin 1/2, application of two-dimensional single-quantum/double-quantum correlation experiment (<sup>27</sup>Al SQ/DQ MAS NMR) to increase spectral resolution of NMR spectra of quadrupolar nuclei is introduced.

VŠCHT Praha vlastní novou telefonní ústřednu, její provoz je

**220 44**

Čtyřmístná čísla vnitřních linek zůstávají beze změny.

## CHEMICKÉ PROJEVY LASEROVÝCH JISKER

DAGMAR BABÁNKOVÁ<sup>a,b,c</sup>, SVATOPLUK  
CIVIŠ<sup>b</sup> a LIBOR JUHA<sup>a,d</sup>

<sup>a</sup>Fyzikální ústav, Akademie věd České republiky, Na Slovance 2, 182 21 Praha 8, <sup>b</sup>Ústav fyzikální chemie Jaroslava Heyrovského, Akademie věd České republiky, Dolejškova 3, 182 23 Praha 8, <sup>c</sup>Katedra fyzikální a makromolekulární chemie Univerzity Karlovy, Albertov 6, 128 43 Praha 2, <sup>d</sup>Ústav fyziky plazmatu, Akademie věd České republiky, Za Slovankou 3, 182 21 Praha 8  
babankova@jh-inst.cas.cz, civis@jh-inst.cas.cz,  
juha@fzu.cz

Došlo 1.3.04, přepracováno 20.5.04, přijato 29.5.04.

Klíčová slova: laserové jiskry, plazmochemie, laserová chemie, fotochemie

## Obsah

1. Úvod
2. Anorganická a organická chemie laserových jisker: přehled chemických reakcí iniciovaných laserovým plazmatem
3. Geochemie s laserovými jiskrami: laboratorní simulace atmosférických dějů o vysoké hustotě energie
4. Fyzikální chemie laserových jisker: Jakými způsoby může laserové plazma iniciovat chemické reakce?
5. Závěr

## 1. Úvod

Poměrně krátce po objevu laseru bylo zjištěno (viz práce v cit.<sup>1-3</sup>), že při fokusování laserového záření v plyném prostředí dochází v určitém místě zužujícího se svazku k dielektrickému průrazu plynu (laser-induced dielectric breakdown – LIDB), čímž se v soustavě vytváří oblak dobře definovaného, relativně horkého a hustého plazmatu, ostře ohraničeného v prostoru a čase. Jednotlivé volné elektrony, vytvořené při většinou nerezonanční interakci laserového záření s plynem či nahodile vzniklé jinými procesy, jsou v silném elektromagnetickém poli fokusovaného laserového svazku urychleny na energie umožňující srážkově ionizovat atomy či molekuly plynu za vzniku dalších elektronů, které se zmíněným způsobem urychlují. Celý proces se mnohokrát opakuje, dochází ke kaskádové ionizaci plynu vytvářející plazma. Tento jev byl nazván

laserovou jiskrou. Od běžného jiskrového výboje se liší především absencí elektrod a na ně vloženého vnějšího elektrického napětí. Ačkoli fyzikální podstata laserových jisker se již stala předmětem celé řady souborných referátů a monografií (např.<sup>2-4</sup>), jejich chemické projevy dosud takto zpracovány nebyly.

V tomto příspěvku se omezíme výhradně na chemické účinky LIDB v homogenních (alespoň na počátku ozařování) plyných soustavách. Tvorba laserového plazmatu na povrchu pevné fáze či v kapalině má často též zajímavé chemické důsledky, které jsou poslední dobou intenzívně studovány. Materiál o těchto jevech je poměrně rozsáhlý, a vymyká se rozsahu tohoto příspěvku.

## 2. Anorganická a organická chemie laserových jisker: přehled chemických reakcí iniciovaných laserovým plazmatem

Již v roce 1966 bylo prokázáno<sup>5</sup>, že spuštění laserové jiskry v molekulárním plynu vede k významným chemickým změnám v ozařené soustavě. V parách nízkomolekulárních organických látek, jmenovitě tetrachlormethanu, chloroformu, methanolu, acetonu a hexanu, byl fokusován svazek rubínového laseru. Vzniklé plazma bylo diagnostikováváno prostřednictvím emisní spektroskopie v oblasti 230 nm až 695 nm. Ve spektrech dominovaly produkty rozkladných a ionizačních procesů (C, C<sup>+</sup>, C<sup>2+</sup>, Cl<sup>+</sup>, O<sup>+</sup>). Ovšem i v jednoulíkových molekulárních plynech došlo k tvorbě C<sub>2</sub>. To svědčí o otevření reakčních cest vedoucích ke vzniku víceuhlíkových molekul. Pomocí hmotové spektrometrie a plynové chromatografie byly v CCl<sub>4</sub> a CHCl<sub>3</sub> vystavených účinkům laserových jisker skutečně identifikovány molekuly tetrachlorethenu, hexachlorethanu, hexachlorbenzenu a oktachlor-naftalenu.

Přestože výzkum chemických projevů laserových jisker byl zahájen ozařováním organických molekul<sup>5</sup>, pokračoval od poloviny sedmdesátých let hlavně s anorganickými plyny. Touto problematikou se soustavně zabýval Ronn a spol.<sup>6-10</sup>. Využívali výkonového pulzního laseru CO<sub>2</sub>, generujícího intenzivní IČ záření (pokud není uvedeno jinak, byl laser naladěný na 10,6 μm) v pulzech délek ~ 100 ns nesoucích energii ~ 1 J. Praktickým cílem těchto experimentů byla příprava malých pevných částic síry<sup>6</sup> a různých kovů (Fe, Mo, Cr) působením laserové jiskry na sulfid karbonylu<sup>6,7</sup>, fluorid sírový ve směsi s molekulárním vodíkem<sup>8</sup> a na karbonyly uvedených kovů<sup>9</sup>. Ronn a Earl<sup>10</sup> stimulovali LIDB reakci



Z ozařené směsi se vyloučily jemné částice UF<sub>5</sub>. K renesanci zájmu o LIDB metodu syntézy malých pevných částic došlo s rozvojem výzkumu pevných nanočástic

a nanočásticových materiálů. Majima a spol.<sup>11</sup> opakovali Ronnovy experimenty s  $\text{Fe}(\text{CO})_5$ . LIDB rozkladem pentakarbylu železa připravili vysoce isomorfní nanočástice železa o středním charakteristickém rozměru 13 nm. Popsaná metoda vykazuje ve srovnání s  $\text{CO}_2$  laserem indukovaným rozkladem  $\text{Fe}(\text{CO})_5$  fotosensibilizovaným  $\text{SF}_6$ , kterým se autoři zabývali dříve, několik podstatných výhod. Především není třeba vytvářet homogenní směs  $\text{Fe}(\text{CO})_5$  a  $\text{SF}_6$ , která je nestabilní už při laboratorní teplotě. Laserová jiskra poskytuje železo rozkladem čistého  $\text{Fe}(\text{CO})_5$ , což vylučuje kontaminaci vytvořených nanočástic železa nežádoucím  $\text{FeF}_2$ . LIDB nevyžaduje rezonanční absorpci laserového záření výchozí látkou; laser tudíž nemusí být naladěn na pevně danou vlnovou délku a může být provozován za výkonově optimálních podmínek. Generace částic a reakční zóna vůbec jsou lokalizovány v blízkosti fokusu svazku a tak vzdáleny od vstupních okének kyvety. Nedochozí k jejich tepelnému namáhání, zapojení do reakční soustavy a preferenční depozici částic na nich v takové míře, kterou musíme uvažovat vždy při ozařování silně absorbujícího reagujícího plynu (např. zmíněný  $\text{SF}_6$ ) v kyvetě. Tento výčet jsme zde podrobně uvedli, neboť umožňuje na konkrétním případě demonstrovat hlavní výhody chemie LIDB ve srovnání s příslušnými postupy konvenční laserové chemie. V práci<sup>11</sup> čtenář nalezne dalších odkazy na využití laserové jiskry k syntéze malých pevných částic.

Prokázalo se<sup>6,7</sup>, že v jednoduché, účinkům plazmatu LIDB vystavené reakční soustavě, jakou je např. plynný  $\text{COS}$  v kontaktu s produkty svého rozkladu, tj. oxidem uhelnatým a pevnými částicemi síry, se přednostně štěpí nejslabší vazba uhlík-síra za vzniku termodynamicky stálých produktů. Reakce indukované LIDB jsou tedy chápány jako selektivní pouze ve smyslu vyhledání nejslabší vazby v příslušném molekulárním systému, která za daných podmínek podléhá primární disociaci. Tvorba produktů je tedy řízena termodynamicky.

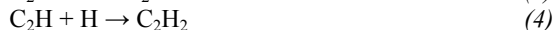
Kromě výše popsaných soustav, poskytujících pod vlivem laserové jiskry pevné částice, byly studovány i takové anorganické plyny, které zůstaly po působení jiskry homogenní. Např. Kojima a Naito<sup>12</sup> indukovali pulzním  $\text{CO}_2$  laserem jiskru v  $\text{CO}_2$  a směsi  $\text{CO}$  s  $\text{O}_2$ , s cílem zjistit vliv LIDB na reakci



Blazejowski a Lampe<sup>13</sup> použili stejný laser k realizaci jiskry ve směsi  $\text{H}_2$  s  $\text{D}_2$ , vedoucí k tvorbě HD. Vzhledem k výpočetní jednoduchosti a rozsáhlým experimentálním znalostem o iontových, atomárních a molekulárních vodíkových soustavách a procesech se tato reakce jeví jako nadějný modelový systém pro hlubší pochopení a exaktní popis vztahů mezi vlastnostmi a chováním plazmatu LIDB a jeho chemickými účinky.

Nyní se vrátíme k organickým látkám, jimiž jsme přehled chemie laserových jisker zahájili. Již v první Ronnově práci<sup>6</sup> byla kromě zmíněných anorganických sloučenin studována i jedna organokovová. Šlo o ferrocen,  $[\text{Fe}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)_2]$ , rozkládající se působením laserové

jiskry za vzniku depozitu železa. V práci<sup>14</sup>, věnované už jen organickým molekulám, byla měřena a interpretována emisní spektra LIDB plazmatu methanu a čtyř jeho fluoroderivatů. Převažujícím konečným produktem působení laserové jiskry v methanu je  $\text{C}_2\text{H}_2$ . Vzhledem k tomu, že v průřezovém spektru  $\text{CH}_4$  dominují radikály  $\text{C}_2$ ,  $\text{CH}$  a  $\text{H}$ , předpokládá se tento mechanismus tvorby acetylénu:



Při ozáření halogenderivatů methanu se ukázalo, že molekulární fragmenty jako  $\text{CF}_2$  a  $\text{CF}_3$  se ve spektrech projevují v závislosti na rostoucím počtu atomů halogenu v molekule, přičemž intenzity linií přiřazených halogenovým atomům rostou, zatímco intenzita  $\text{CH}$  a  $\text{H}$  klesá. Plazmatem LIDB působili na pět dalších nasycených uhlovodíků (ethan, propan, butan, isopentan a cyklohexan) Kojima a Naito<sup>12</sup>.  $\text{CH}_4$  zreagoval, obdobně jako v práci<sup>14</sup>, hlavně na  $\text{C}_2\text{H}_2$ . Autoři<sup>12</sup> konstatovali, že tím se iniciace LIDB liší od radiolýzy, fotolýzy a působení některých elektrických výbojů. Ty totiž produkují jako hlavní produkt  $\text{C}_2\text{H}_6$ .  $\text{C}_2\text{H}_2$  dominuje produktům přeměny  $\text{CH}_4$  v rázové trubici. Vysoký výtěžek  $\text{C}_2\text{H}_2$  tedy dostáváme při náhlém ochlazení energetizovaného  $\text{CH}_4$ , což je pro laserovou jiskru, rychle expandující do okolního chladného plynu, dobře splněno.

Dosud nejsystematičtější studium LIDB rozkladu uhlovodíků realizovali Quinn, Sabet a Alyassini<sup>15</sup>. V závislosti na energii laserového pulzu, vlnové délce pulzního laseru  $\text{CO}_2$  a tlaku ozařovaného plynu (hexanu, cyklohexanu, methylcyklohexanu a benzenu) studovali jednak emisi z blízkosti fokusu svazku a pomocí IČ spektrofotometrie a plynové chromatografie konečné produkty rozkladu. Při nízkých energiích a tlacích byla pozorována slabá emise, pokud byl laser naladěn na čáru vykazující nenulovou absorpci v ozařované molekule. Na čarách nacházejících se mimo IČ absorpční pásy příslušné molekuly nebyla pozorována žádná luminiscence. Na vzniku slabé emise se tedy podílí hlavně multifotonová excitace molekul. Za těchto podmínek jsou irreverzibilní změny v ozařované soustavě nevýrazné, a to i po ozáření vysokým počtem pulzů. Naproti tomu při vyšších energiích a tlacích vzniká silná emise spojená s dramatickými změnami chemického složení soustavy. Tyto jevy nezávisí na vlnové délce laseru. Autoři<sup>15</sup> odvozují, že se jedná o typické projevy LIDB. Spektra slabé a silné emise jsou velmi podobná; odpovědný jsou za ně radikály  $\text{C}_2$  a  $\text{CH}$ . Všechny tři alifatické uhlovodíky poskytují v obou ozařovacích režimech jako hlavní produkty  $\text{C}_2\text{H}_2$ ,  $\text{C}_2\text{H}_4$  a  $\text{H}_2$ . V režimu slabé emise jich ovšem vznikají pouze stopová množství. V benzenu vyprodukovala laserová jiskra  $\text{C}_2\text{H}_2$ ,  $\text{H}_2$  a pevné uhlíkové částice.

Quinn a spol.<sup>15</sup> mimo jiné ukázali, že i když bývá plazma LIDB většinou generováno v plynech neabsorbujících laserové záření, lze tento způsob laserové stimulace chemických reakcí použít i u absorbujících molekul. Předmětem práce<sup>16</sup> bylo spektroskopické studium emise

plazmatu produkovaného v  $C_2H_4$ ,  $C_3H_6$ ,  $CF_4$  a  $CH_3COCF_3$  fokusovaným zářením laseru TEA  $CO_2$  naladěného na čarách rezonujících s IČ aktivními módy příslušných molekul. Výhodou užití takového přístupu může být, že pro absorbující molekuly leží práh LIDB většinou na výrazně nižších energiích, než pro neabsorbující plyn. Se stejným laserem tak lze generovat větší objem plazmatu.

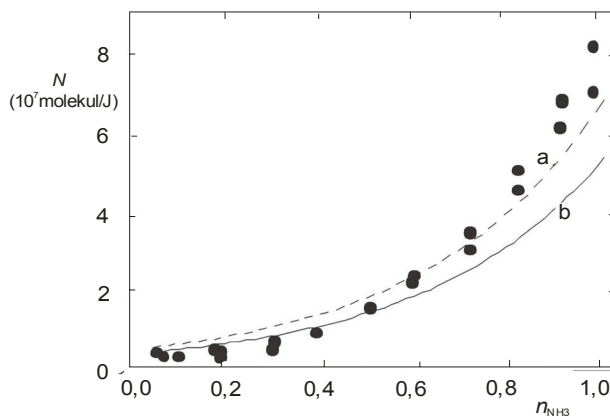
Ouchi a Sakuragi<sup>17</sup> indukovali laserovým plazmatem dehydrochloraci 1,2-dichloropropanu. Její průběh porovnali s vysokoteplotní termickou reakcí a zjistili téměř totožný průběh. Laserová jiskra však při studiu pyrolýzy umožňuje eliminovat vliv stěn reaktoru a ohřevu reagujícího plynu skrze ně.

Závěrem zmíníme prakticky motivované experimenty. Při syntéze nanočástic s využitím laserových jisker se již uplatnily také organické látky. Oyama a Takeuchi<sup>18</sup> iniciovali ve směsi benzenu a chloridu boritého laserovou jiskru, s jejíž pomocí připravili částice o charakteristických rozměrech několika desítek nanometrů, složené z  $B_4C$  a grafitu. Fu a spol.<sup>19</sup> připravili ultrajemné částice  $SiC$  působením laserové jiskry ve směsi  $CH_4-SiH_4-H_2/Ar$ . Značná pozornost<sup>20</sup> je věnována studiu působení laserových jisker při zážehu palivových směsí, především methanových.

### 3. Geochemie s laserovými jiskrami: laboratorní simulace atmosférických dějů o vysoké hustotě energie

Silný impuls současnému výzkumu chemických procesů laserových jisker udělily práce využívající laserového plazmatu generovaného ve směsi molekulárních plynů jako laboratorního modelu odezvy planetárních atmosfér na bleskový výboj či dopad mimozemského tělesa. Již v roce 1980, tedy v přímé návaznosti na Ronnovy rané práce o chemii laserových jisker, referovali o výsledcích orientačních experimentů tohoto druhu Davisová, Smith a Guillory<sup>21</sup>. Jejich práce ovšem nebyla patřičně doceněna. Zájem o toto téma oživily až úspěchy systematického, většinou čistě fyzikálního studia laserem simulovaných blesků v modelových atmosférách různých planet sluneční soustavy (viz přehled v obsáhlém článku<sup>22</sup>). Následné chemické studie byly věnovány hlavně produkci organických sloučenin<sup>23–25</sup> nutných pro vznik života a oxidů dusíku<sup>26,27</sup> ( $NO$  a  $NO_2$ , vznikajících v dusíkových atmosférách účinkem blesku), za různých modelových reakčních podmínek. Ve všech těchto experimentech bylo ke generaci plazmatu LIDB užito pulzů Nd:YAG laseru délky  $\sim 1\div 10$  ns a energie  $\sim 100$  mJ. Nízká energie pulzů je kompenzována vysokou opakovací frekvencí – typicky 10 Hz. Neodymový laser většinou<sup>23–26</sup> pracoval na fundamentální frekvenci ( $\lambda = 1064$  nm). Pouze jedna práce<sup>27</sup> využívala druhé harmonické ( $\lambda = 532$  nm). Základní parametry plazmatu LIDB se tedy v těchto pracích nijak dramaticky nelišily. Co se ovšem podstatně měnilo, bylo složení reakční směsi, to vždy sledovalo simulované geochemické soustavy a procesy.

Atmosféra největšího Saturnova měsíce Titanu je v současné době tvořena převážně  $N_2$  s příměsí  $CH_4$ . Raná atmosféra Titanu byla ovšem směsí  $NH_3$  a  $CH_4$ . McKay a spol.<sup>23</sup> simulovali pomocí laserových jisker dopad velmi rychlého meteoritu do této atmosféry, s cílem zjistit, zda by takové dopady mohly účinně přeměňovat  $NH_3$  rané atmosféry na  $N_2$  a z  $CH_4$  vytvářet další organické sloučeniny. Pomocí plynové chromatografie a IČ spektrofotometrie stanovili, že ve směsi  $NH_3-CH_4$  vzniká působením plazmatu LIDB  $N_2$  s poměrně vysokým výtěžkem  $1,2 \cdot 10^{17}$  molekul/J. To prokazuje, že vysokorychlostní dopady meteoritů do rané atmosféry Titanu mohly způsobit kvantitativní přeměnu  $NH_3$  na  $N_2$ , což se dříve přičítalo pouze účinkům slunečního UV záření. Výtěžek srovnatelný s  $N_2$  byl stanoven rovněž pro  $HCN$  a  $C_2H_2$ . Jen o něco málo nižší hodnoty byly nalezeny pro uhlovodíky  $C_2H_6$ ,  $C_2H_4$  a  $CH_3C\equiv CH$ . S nejvyšším výtěžkem,  $2,1 \cdot 10^{18}$  molekul/J, se vytvářel  $H_2$ . Molární zlomek  $NH_3$  měnil od 0,05 do 1,0; výše uvedené výtěžky se vztahují ke směsi  $NH_3-CH_4$  s molárním zlomkem  $NH_3$  rovným 0,5. Vysokoteplotní rovnovážný model vystihuje naměřené hodnoty výtěžků  $N_2$  a jejich závislost na molárním zlomku  $NH_3$  ve směsi, pokud rovnováha zamrzla (byla zabrzděna resp. fixována) ve stavu daném pro 4000 K (tzv. freeze-out temperature). Srovnání výsledků této a další možné simulace (předpokládá se nižší teplota zamrznutí rovnováhy a výsledek je korigován určitým faktorem) s experimentální závislostí je na obr. 1. V průměru jsou jednotlivé experimentální a teoretické hodnoty výtěžku v poměrně dobré shodě; odchylky charakteru závislosti jsou ovšem místy dobře patrné. Pro další produkty není shoda již tak dobrá. Autoři<sup>23</sup> proto navrhli použít model rovnováhy zamrzlé při 2000 K s korekcemi (plná čára na obr. 1) a hlavně pro malé uhlovodíky započítat jejich syntézu fotochemickými reakcemi indukovanými



Obr. 1. Závislost výtěžku  $N_2$  ( $N$ ,  $10^7$  molekul/J) na molárním zlomku  $NH_3$  ( $n_{NH_3}$ ) ve směsi  $NH_3-CH_4$ , simulující ranou atmosféru Titanu, vystavené působení plazmatu LIDB (upraveno dle cit.<sup>23</sup>). • hodnoty výtěžku stanovené v experimentech s laserovou jiskrou; a, b závislosti vypočtené metodou zamrzlých rovnováh, a – 4000K, b – 2000K (x 1/4)

mi UV zářením laserové jiskry.

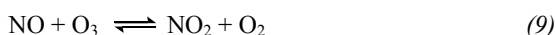
LIDB směsi CH<sub>4</sub>-N<sub>2</sub>-H<sub>2</sub> byl proveden s cílem<sup>24</sup> odhadnout účinnost tvorby HCN, C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>6</sub> a C<sub>3</sub>H<sub>8</sub> v současné atmosféře Titanu iniciované blesky a dopady vesmírných těles. Pro srovnání byly stejné směsi ozářeny externě generovaným UV zářením a vystaveny působení elektrického jiskrového výboje, přičemž jako mírně účinnější za daných podmínek byla nalezena laserová jiskra. Výtěžky HCN a C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> odpovídají předpovědi jednoduchého modelu vysokoteplotní rovnováhy zamrzlé ve stavu charakteristickém pro teploty mezi 2000–3000 K. Pro ostatní organické sloučeniny ovšem shody dosaženo nebylo. Vypočtené hodnoty se pohybují až o několik řádů pod naměřenými hodnotami. Podobně jako v práci<sup>23</sup>, to autoři připisují<sup>24</sup> významnému podílu UV fotochemických reakcí na tvorbě těchto produktů.

McKay a Borucki<sup>25</sup> indukovali laserové jiskry ve dvou plynných směsích (CH<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>O-CO<sub>2</sub>-N<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>S a CO<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>), jejichž složení bylo odvozeno ze složek rané zemské atmosféry a dvou druhů kometárního materiálu. Cílem experimentu bylo sledovat chemické důsledky dopadu takových mimozemských těles do rané zemské atmosféry. Ve směsi bohaté na CH<sub>4</sub> vznikla řada organických sloučenin, až šestiuhlíkových. Po delších expozicích (až 20 min při opakovací frekvenci laseru 10 Hz) vzniká v kyvetě i pevný deposit obsahující sloučeniny s aminovou skupinou, což svědčí o možnosti syntézy aminokyselin za daných podmínek. Ve směsi bohaté na CO<sub>2</sub> nevznikly žádné organické látky.

Tvorba oxidů dusíku (NO a NO<sub>2</sub>) ve vzduchu, jímž prochází bleskový kanál, byla úspěšně simulována laserovou jiskrou<sup>26,27</sup>. Dle Zeldoviče<sup>28</sup> vzniká NO ve vysoce přehřátém vzduchu následovně:



NO<sub>2</sub> se pak vytváří z NO reakcemi<sup>27</sup>:



Přestože byl tento, z hlediska chemie atmosféry velmi důležitý<sup>29</sup>, proces laboratorně studován převážně s využitím elektrických výbojů (viz práce v cit.<sup>26,27,29</sup>), studie s laserovou jiskrou<sup>26,27</sup> významně přispěly k objasnění mechanismu chemického působení plazmatu. Podrobněji o nich proto pojednáme v následující kapitole.

Reakce diskutované v předcházejícím odstavci jsou v současnosti základem abiotické fixace atmosférického dusíku. Je velmi pravděpodobné, že kolaps tohoto mechanismu produkce NO se stal podnětem pro vznik biologického aparátu fixace N<sub>2</sub>. Kdy a jak mohlo k něčemu takovému v průběhu historického vývoje zemské atmosféry dojít? Pomocí laserové jiskry ve směsi CO<sub>2</sub>-N<sub>2</sub> bylo prokázáno<sup>30</sup>, že pokles molárního zlomku CO<sub>2</sub> ve směsi vede k dramatické redukci výtěžku NO. Pokles parciálního tla-

ku CO<sub>2</sub> pod 4 kPa v atmosféře před 2,2 miliardami let, zjištěný analýzou paleosolů, mohl tedy způsobit kolaps abiotické fixace atmosférického dusíku účinkem blesků a dát tak archaickým organismům podnět k vývoji vlastního fixačního aparátu. Před obnovením abiotické fixace ve vytvářející se kyslíkové atmosféře nebo produkci HCN v methanové atmosféře, se pak stačily vytvořit i biologické mechanismy fixace dusíku.

#### 4. Fyzikální chemie laserových jisker: Jakými způsoby může laserové plazma iniciovat chemické reakce?

V centrální oblasti laserové jiskry, přímo v laserem indukovaném plazmatu, můžeme z hlediska změn chemického složení soustavy uvažovat pouze rozkladné procesy. Hustota energie a hustota toku energie tam nabývají extrémně vysokých hodnot, při nichž se všechny molekuly rychle rozloží až na atomární ionty. Toto relativně malé, horké jádro laserového plazmatu je ovšem obklopeno velkým množstvím na počátku chladného molekulárního plynu. Musíme tedy hledat odpověď na otázku, jakými procesy vlastně může laserová jiskra indukovat chemické reakce v molekulárním plynu. Energie laserového svazku, deponovaná v jiskře, se do okolí dostává v zásadě třemi cestami:

- rázovou vlnou, která se v určitém okamžiku oddělí od expandujícího plazmatu,
- mísením a interakcí expandujícího plazmatu, charakterizovaného velmi vysokou teplotou a obsahem reaktivních částic (iontů, volných radikálů, atomů) v základních i excitovaných stavech, s okolním plynem,
- krátkovlnným (UV-VUV/XUV) zářením a energetickými částicemi emitovanými plazmatem.

Jejich podíl na chemických změnách je dán jednak parametry laserového pulzu, určujícími teplotu a další klíčové charakteristiky jím generovaného plazmatu, jednak rozdíly jejich účinnosti při iniciaci chemických reakcí v dané molekulární soustavě.

Jak se na tvorbě NO indukované laserovou jiskrou ve vzduchu podílí ohřev reakční směsi rázovou vlnou a expandujícím plazmatem vyšetřoval Navarro-González a spol.<sup>26</sup>. Jiskra, indukovaná ve vzduchu o atmosférickém tlaku pulzy Nd:YAG laseru (energie 300 mJ, délka 7 ns; vlnová délka 1064 nm), byla sledována pomocí laserové stínografie a interferometrie s časovým rozlišením. Těmito technikami byly stanoveny teploty expandujícího horkého plynu a rychlosti šíření čela rázové vlny. Z rychlosti šíření lze odvodit maximální teplotu v rázové vlně. Zohledněním nalezených teplotních rozsahů při termochemických výpočtech bylo zjištěno, že za daných podmínek se 99,8 % NO tvoří v horkém plynu expandující jiskry. Chemické působení rázové vlny je zde zanedbatelné.

Rahman a Cooray<sup>27</sup> sledovali pomocí chemiluminiscenčního analyzátoru produkci NO a NO<sub>2</sub> indukovanou laserovým plazmatem generovaným ve vzduchu. Energie

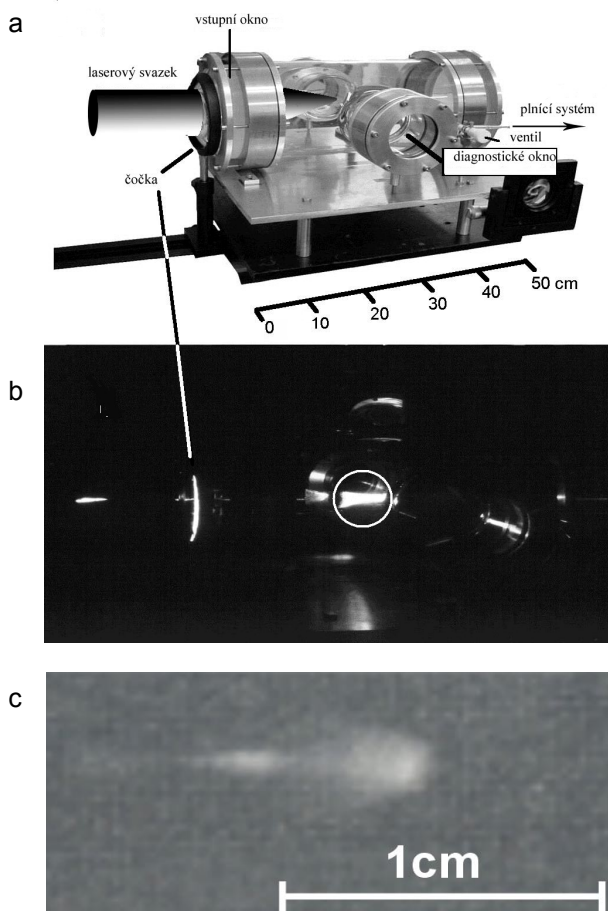


pulzů druhé harmonické Nd:YAG laseru se měnila od 13 mJ do 99 mJ, přitom v celém tomto rozsahu nedošlo ke změnám poměru výtěžků NO a NO<sub>2</sub>, který byl roven 2,2. Poměr vyšší než jedna je v logice vzniku NO<sub>2</sub> z NO reakcemi (9) a (10). Zajímavé je, že se účinkem elektrických výbojů tvoří NO<sub>2</sub> jen 10 mol.% z celkového množství NO a NO<sub>2</sub>. Poměr výtěžků NO a NO<sub>2</sub> s laserovou jiskrou je tedy výrazně nižší než při elektrickém výboji, i když celkový výtěžek NO<sub>x</sub> je v obou případech prakticky totožný. Proč tomu tak je, není zatím jasné. Hlavním cílem práce<sup>27</sup> ovšem bylo experimentálně ověřit model studovaného procesu založený na představě zamrzlé rovnováhy tvorby NO a sférické jiskry s gausovským rozdělením teploty v radiálním směru. Maximum teploty se nachází ve středu jiskry. Je známo, že k maximální produkci NO dochází ve vzduchu při teplotách 3000–5000 K. Dojde-li k ochlazení reakční soustavy na teplotu pod 1000 K tak rychlému, aby se vytvořený NO nestačil rozložit, rovnováha se zabrzdí (zamrzne) ve stavu typickém pro teploty  $\geq 3000$  K. K tomu dochází při expanzi plazmatu LIDB do chladného okolního plynu. Model expanze laserové jiskry užitý v práci<sup>27</sup> umožňuje vypočítat pro danou energii laserového pulzu objem vzduchu zahřátého na teplotu  $\geq 3000$  K. Hodnoty výtěžku NO<sub>x</sub> měřené v závislosti na energii laserového pulzu se ukázaly jako přímo úměrné tomuto objemu. Přes svou jednoduchost, se tak diskutovaný model dobře osvědčil.

Pomocí optické emisní spektroskopie prokázali již začátkem osmdesátých let Langsam a Ronn<sup>9</sup> v různých karbonylech kovů excitaci výchozích látek a produktů UV-Vis zářením plazmatu vytvořeného fokusací TEA CO<sub>2</sub> laseru. Výše již byly zmíněny pozdější práce<sup>23–25</sup>, kde se podstatný podíl na chemických účincích laserové jiskry přisuzuje právě fotochemickým reakcím. Ke stanovení podílu fotochemických účinků UV záření plazmatu LIDB na celkových chemických změnách v okolním plynu byla využita<sup>24,25</sup> dvojitá kyveta, jejíž části byly od sebe odděleny MgF<sub>2</sub> okénkem propouštějícím UV záření. Tak se zjistilo, že fotochemicky vzniká čtvrtina celkového množství C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>, polovina C<sub>2</sub>H<sub>6</sub> a desetina HCN vytvořeného laserovou jiskrou ve směsi plynů bohaté na CH<sub>4</sub>.

Záření velmi horkého plazmatu LIDB by mohlo vyřešit těžkosti, které provázejí studium syntézy organických sloučenin ve směsi plynů o složení rané zemské atmosféry ozařených rentgenovým synchrotronovým zářením<sup>31,32</sup>. Při něm se musí synchrotronové záření dostat z vysokého vakua, kde je generováno, do kyvety naplněné plynem o relativně vysokém tlaku. Její vstupní okno tedy musí být dostatečně masivní, aby vydrželo přetlak<sup>33</sup>. Dochází v něm pak ale ke značným ztrátám zářivé energie. Patně ještě větší problém představuje fakt, že povrch okénka se uvnitř kyvety zapojuje do řady radiačně chemických procesů a je na něm deponována podstatná část produktů. Reakční soustavu již nemůžeme pokládat za homogenní. Naproti tomu laserová jiskra je generována přímo v ozařovaném plynu a zářivá energie se z ní do okolí šíří bez zbytečných ztrát.

Vyzařování jiskry v XUV spektrálním oboru se nelineárně zvyšuje s rostoucí energií laserového pulzu. Užití



Obr. 2. Optické fotografie laserových jisker indukovaných za atmosférického tlaku; a,b) jodovým fotodisociačním laserem ( $\lambda = 1,3152 \mu\text{m}$ , energie pulzu za vstupním oknem kyvety byla 85 J, délka pulzu činí 450 ps; fokusováno skleněnou čočkou s ohniskovou délkou 25 cm; na fotografii 2b je plazma LIDB zakroužkováno) ve směsi CO<sub>2</sub>-N<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>O<sup>34,35</sup> a c) laserem TEA CO<sub>2</sub> ( $\lambda = 10,6 \mu\text{m}$ , energie pulzu  $\leq 3$  J, délka pulzu 100 ns; fokusováno Ge čočkou s ohniskovou délkou 5 cm) ve vzduchu<sup>36</sup>

vysoce výkonového laseru, jehož jednotlivé pulzy nesou energii  $\sim 100$  J, pro stimulaci chemických reakcí LIDB má i jiná specifika. Značnému energetickému obsahu odpovídá při dané délce pulzu vysoká intenzita. Fokusuje-li takový svazek v plynu, dosáhneme průrazové intenzity na podstatně delší vzdálenosti od ohniska, kde je průměr svazku mnohem větší. S výkonovým, 100-J pulzem lze tedy vyprodukovat řádově větší objemy plazmatu LIDB (obr. 2b), než dosud užívanými pulzy o energiích  $\sim 0,1 \div 1$  J (obr. 2c). Připočteme-li k tomu, že množství produktů jsou úměrně energii, deponované v plazmatu LIDB, lze plazmochemický experiment realizovat s jedním laserovým pulzem. Výkonový laser tak umožňuje vytvořit realistický model procesů, zmíněných v předchozí části tohoto referátu. Dosud k tomu využívané malé, vysokorepetiční lasery generují jen velmi malý objem plazmatu, nesouměřitelný s velkými objemy plazmatu atmosférických dějů. Jeden pulz o energii  $\sim 100$  mJ též obvykle produkuje ne-

stanovitelná množství produktů. Aby byla chemická analýza produktů možná, je třeba akumulovat v kvetě účinky několika tisíc pulzů. Plazmatu LIDB tak dáváme nežádoucí příležitost působit na produkty, vytvořené předchozími pulzy. Při reálných atmosférických dějích je horké plazma do značné míry odděleno v prostoru a v čase od konečných produktů reakcí, jím v atmosférických plynech iniciovaných. Tuto podmínku umožní naplnit pulzy s energetickým obsahem  $\sim 100$  J. Orientační experimenty, realizované s výkonovým jodovým fotodisociačním laserovým systémem<sup>34</sup> PALS, již poskytly nadějně výsledky v tomto směru. Deset pulzů, každý o energii 85 J, fokusovaných do směsi CO/CO<sub>2</sub>-N<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>O vytvořilo taková množství aminokyselin, která již bylo možno spolehlivě stanovit kapalinovou chromatografií<sup>35</sup>.

Třetí cesty, kterou energie laserové jiskry stimuluje chemické reakce, se kromě výše zmíněných fotonů mohou v principu účastnit i nabitě částice emitované horkým plazmatem jiskry. Rozsah vlivu nabitých částic plazmatu jiskry na okolní plyn je dán v prvé řadě tlakem tohoto plynu a elektronovou hustotou a teplotou plazmatu LIDB. Langsam a Ronn<sup>9</sup> soudí, že ionty plazmatu jiskry nemohou přenášet její energii hlouběji do okolního plynu, neboť dosah iontů předpokládané energie je v plynu daného tlaku příliš krátký. Chemické účinky laserové jiskry na tři vybrané anorganické fluoridy (SF<sub>6</sub>, NF<sub>3</sub> a SiF<sub>4</sub>) vyšetřovali Jeleckij, Klimov a Legasov<sup>37</sup>; dospěli k závěru, že při dostatečně nízkých tlacích ( $p < 2,7$  kPa) je pozorovaný poměrně účinný rozklad SF<sub>6</sub> a NF<sub>3</sub> způsoben hlavně reaktivním záchytem volných elektronů z plazmatu LIDB. SiF<sub>4</sub> se za daných podmínek rozkládal velmi neochotně. Autoři<sup>37</sup> to vysvětlují tím, že reaktivní elektronový záchyt na SiF<sub>4</sub> nabývá nezanedbatelných hodnot účinných průřezů jen v úzkém rozsahu kinetických energií elektronů.

## 5. Závěr

Stimulace chemických reakcí laserovou jiskrou je dobře zavedenou, nicméně dosud jednou z nejméně rozvinutých disciplín laserové chemie. Laserová jiskra působí na okolní plyn tepelně jeho zahřátím expandujícím plazmatem a rázovou vlnou, fotochemicky resp. radiačně chemicky, krátkovlnným zářením a energetickými částicemi. Přestože se v literatuře nachází řada dílčích poznatků o zmíněných mechanismech, práce, která by hodnověrně popsala podíl všech těchto faktorů na tvorbě produktů nějaké konkrétní laserové plazmochemické reakce, dosud publikována nebyla. Zajímavé využití LIDB v chemii představuje například syntéza nanočástic či studium zážehu palivových směsí; nejsilnější motivace se však nyní nachází na poli laboratorního výzkumu chemických účinků dějů o vysoké hustotě energie v planetárních atmosférách, současných i historických. Moderní výkonové laserové systémy umožňují realizovat tyto simulace jedním pulzem o vysokém obsahu energie, tedy realističtěji, než tisíce nízkoenergetických pulzů, jak tomu bylo dosud.

*Autoři děkují MŠMT ČR za finanční podporu poskytnutou v rámci projektů LA055, LN00A100, a nejnověji IP2004LA235. Dále děkují autorům práce<sup>36</sup> a redakci Čs. Čas. Fyz. za svolení k přetištění obr. 2c.*

## LITERATURA

1. Ready J. F.: *Effects of High-Power Laser Radiation*, str. 212. Academic Press, New York 1971.
2. Rajzer Ju. P.: *Lazernaja iskra i rasprostraněnije razrjadov*. Nauka, Moskva 1974.
3. Weyl G. M., v knize: *Laser-Induced Plasmas and Applications* (Radziemski L. J., Cremers D. A., ed.), str. 1. M. Dekker, New York 1989.
4. Villagrán-Muniz M., Sobral H., Navarro-González R., Velázquez P. F., Raga A. C.: *Plasma Phys. Control. Fusion* 45, 571 (2003).
5. Adelman A.H.: *J. Chem. Phys.* 45, 3152 (1966).
6. Ronn A. M.: *Chem. Phys. Lett.* 42, 202 (1976).
7. Schwebel A., Ronn A. M.: *J. Phys. Chem.* 87, 4375 (1983).
8. Lin S. T., Ronn A. M.: *Chem. Phys. Lett.* 56, 414 (1978).
9. Langsam Y., Ronn A. M.: *Chem. Phys.* 54, 277 (1981).
10. Ronn A. M., Earl B. L.: *Chem. Phys. Lett.* 45, 556 (1977).
11. Majima T., Miyahara T., Haneda K., Ishii T., Takami M.: *Jpn. J. Appl. Phys.* 33, 4759 (1994).
12. Kojima H., Naito K.: *Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev.* 20, 396 (1981).
13. Blazejowski J., Lampe F. W.: *Appl. Phys. B41*, 109 (1986).
14. Schwebel A. H., Ronn A. M.: *Chem. Phys. Lett.* 100, 178 (1983).
15. Quinn M., Sabet Z., Alyassini N.: *J. Phys. Chem.* 86, 2880 (1982).
16. Fantoni R., Borsella E., Caneve L., Piccirillo S.: *Nuov. Cim. D11*, 479 (1989).
17. Ouchi A., Sakuragi M.: *Eur. J. Org. Chem.* 1999, 2249.
18. Oyama T., Takeuchi K.: *Carbon* 37, 433 (1999).
19. Fu G. S., Yu W., Li X. W., Han L., Zhang L. S.: *Phys. Rev. E52*, 5304 (1995).
20. Phuoc T. X., White F. P.: *Combust. Flame* 119, 203 (1999).
21. Davis D. D., Smith G. R., Guillory W. A.: *Orig. Life* 10, 237 (1980).
22. Desch S. J., Borucki W. J., Russell C. T., Bar-Num A.: *Rep. Prog. Phys.* 65, 955 (2003).
23. McKay C. P., Scattergood T. W., Pollack J. B., Borucki W. J., Van Ghysseghem H. T.: *Nature* 332, 520 (1988).
24. Scattergood T. W., McKay C. P., Borucki W. J., Giver L. P., Van Ghysseghem H., Parris J. E., Miller S. L.: *Icarus* 81, 413 (1989).
25. McKay C. P., Borucki W. J.: *Science* 276, 390 (1997).
26. Navarro-González R., Villagrán-Muniz M., Sobral H.,

- Molina L. T., Molina M. J.: *Geophys. Res. Lett.* 28, 3867 (2001).
27. Rahman M., Cooray V.: *Opt. Laser Technol.* 35, 543 (2003).
28. Zel'dovich Y. B., Raizer Y. P.: *Physics of Shock Waves and High-Temperature Hydrodynamic Phenomena*, str. 374. Academic Press, New York 1966.
29. Chameides W. L.: *The Earth's Electrical Environment*, str. 70. National Academy Press, Washington D.C. 1986.
30. Navarro-González R., McKay C. P., Mvondo D. N.: *Nature* 412, 61 (2001).
31. Juha L.: *Čs. Čas. Fyz.* 49, 259 (1999).
32. Utsumi Y., Hattori T.: *Rev. Sci. Instrum.* 73, 1387 (2002).
33. Takahashi J., Utsumi Y., Hosokawa T., Ushiki J., Tadano T.: *J. Synchrotron. Rad.* 5, 548 (1998).
34. Jungwirth K., Cejnarová A., Juha L., Králiková B., Krása J., Krouský E., Krupičková P., Láska L., Mašek K., Mocek T., Pfeifer M., Präg A., Renner O., Rohlena K., Rus B., Skála J., Straka P., Ullschmied J.: *Phys. Plasmas* 8, 2495 (2001).
35. Civiš S., Juha L., Babánková D., Cvačka J., Frank O., Jehlička J., Králiková B., Krása J., Kubát P., Muck A., Pfeifer M., Skála J., Ullschmied J.: *Chem. Phys. Lett.* 386, 169 (2004).
36. Gavrilov P., Pospíšilová M., Vrbová M.: *Čs. Čas. Fyz.* 31, 479 (1981).
37. Jeleckij A. V., Klimov V. D., Legasov V. A.: *Chim. Vys. Energ.* 13, 459 (1979).

**D. Babánková<sup>abd</sup>, S. Civiš<sup>b</sup>, and L. Juha<sup>ac</sup>** (<sup>a</sup>*Institute of Physics*, <sup>b</sup>*J. Heyrovský Institute of Physical Chemistry*, <sup>c</sup>*Institute of Plasma Physics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*; <sup>d</sup>*Department of Physical and Macromolecular Chemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague*): **Chemical Consequences of Laser-Induced Dielectric Breakdown in Molecular Gases**

Chemical reactions initiated by laser-induced dielectric breakdown in homogeneous molecular gases are reviewed. Attention is paid to processes induced in gas mixtures prepared according to the expected composition of planetary atmospheres in order to simulate chemical effects of high-energy-density events (e.g. cometary impact and lightning) in these atmospheres. Utilization of a single pulse from a high-power laser system for this purpose is discussed. The particular processes responsible for the chemical action of laser sparks are identified and described in detail.

## 27. Mezinárodní slovenský a český kalorimetrický seminář

Seminář se bude konat v termínu 23. – 27. května 2005 v hotelu Svratka ve Svratce na Českomoravské vrchovině. Akci pořádá Odborná skupina pro termodynamiku ČSCh a Univerzita Pardubice.

Bližší informace na [www http://www.icpf.cas.cz/ehlt/oscht/kalor2005.htm](http://www.icpf.cas.cz/ehlt/oscht/kalor2005.htm) nebo přímo podá

Ing. Eva Černošková, CSc.  
SLCHPL UMCH AVČR a Univerzity Pardubice  
Studentská 84  
530 12 Pardubice  
e-mail: [eva.cernoskova@upce.cz](mailto:eva.cernoskova@upce.cz)  
tel.: + 420 46 603 6154  
fax.: + 420 46 603 6011

## STRUKTURÁLNÍ FOTOGRAFIKA – NÁSTROJ ZOBRAZENÍ A STUDIA ANIZOTROPNÍHO MATERIÁLU

JIŘÍ HANZLÍK

Vinohradská 85, 120 00 Praha 2

Došlo 3.3.04, přijato 20.7.04.

Klíčová slova: fotografika, světlo, anizotropie

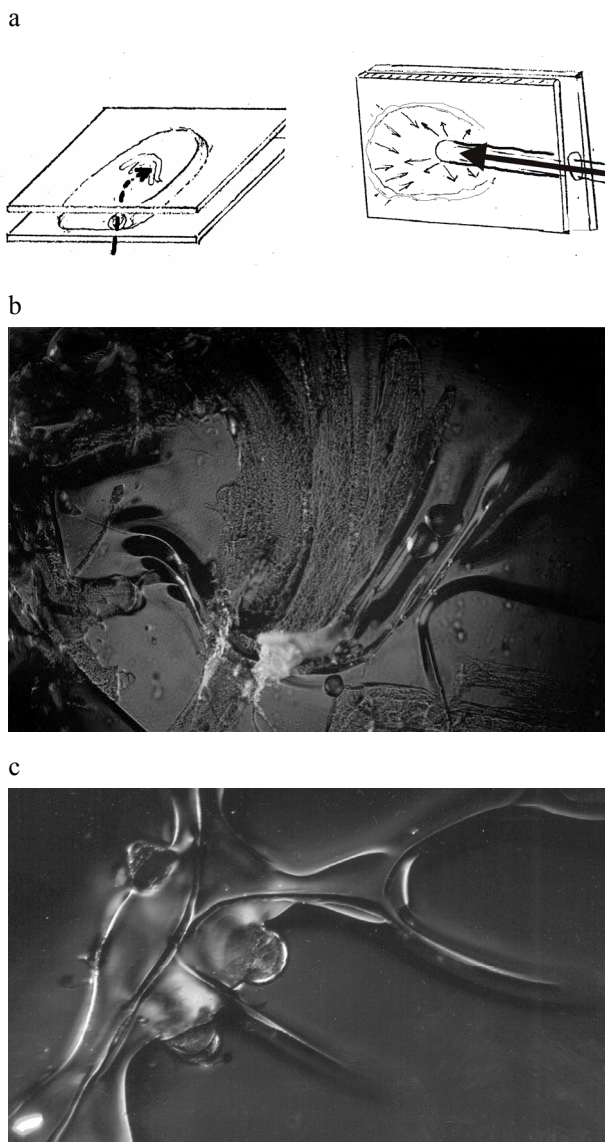
Strukturální fotografika, dříve klihová grafika, patří od roku 1991 mezi nové grafické obory známé i u nás<sup>1-6</sup>. Vychází z optických vlastností bezbarvého plastového reliéfu, vzniklého působením modelující monotónní síly na plastický objekt mikroskopických rozměrů. Umělec tvoří podobné tvary několika různými způsoby: pokládáním klihových vláken v oblasti zobrazení mikropreparátu, vtlačováním kresby v tomto poli do klihové podložky hrotem nebo tupým předmětem nebo krystalizací nesourodé příměsi v prostředí tuhneícího plastu. Jako jedna z nejzajímavějších možností se zdá být použití účinku monotónního modelujícího rázu zaměřeného dovnitř plochého tuhneícího bloku plastického materiálu. Způsoby tvarování a jeho výsledky jsou ilustrovány na obr. 1a,b.

Pokud účinek modelující síly nepřekročí přirozenou návaznost (soudržnost) elementárních mikrostrukturálních uspořádání (partii) právě se tvořícího designu, utvoří se systém viditelných souvislých okrsků a linií (obr. 1c) a vznikne postupně obraz s jednotnou kompozicí, kde vzniká kresba určovaná přirozenou soudržností použitého materiálu (plastu). V uměleckém použití pak tyto tvary obrazy představy dotvářené tvůrčím záměrem a fantazií autora. Ustálení a konečné zformování tvarové představy do souladného celku se stabilizuje obvyklými fotografickými postupy, jako je volba zvětšení, omezení výřezu, volba intenzity osvětlení, volba obklopující scenerie a posléze i volba metody reprodukce na barevný film.

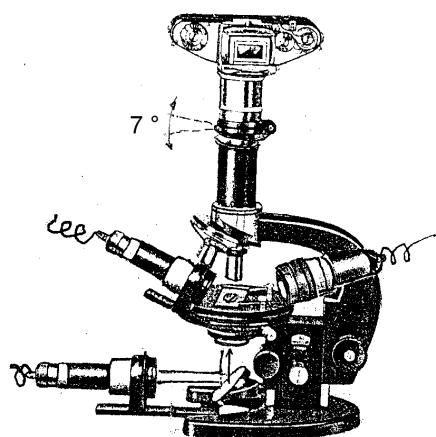
V technickém provedení zobrazovacího experimentu si samostatnou zmínku zaslouží členitý osvětlovací systém a metodika jeho používání (viz obr. 2).

Několik velmi kvalitně zaostřitelných (extrémně soustředěných) různobarevných zdrojů tu vstupuje dovnitř členitého, pro zjednodušení bezbarvého a transparentního vzorku (plastového modelu), kde pronikají dovnitř jeho světlovodných okrsků a domén. Tím se tyto dílčí objekty stanou samostatnými vodiči světla, takže vysílají do kamery své individuální světelné emise. Působí sice svojí vlastní hrou světelných barev a odstínů ale nevrhají přitom do svého okolí stíny v běžném fotografickém smyslu. Utvářejí vlastní vícebarevný obraz podle klasických optických zákonů a proměn světelných intenzit. Takovým osvětlením se zobrazený model stane vůči kamere souborem nezávislých dílčích zdrojů světla. Jejich řízená kompozice pak

v uměleckém použití připomíná spíše práci scénografa při světelném modelování budoucí scény. Rozmanitost kompozice pak způsobem osvětlení mnohem víc odpovídá představě autora o způsobu zobrazení, než geometrickým a hmotným vlastnostem samého objektu. Na druhé straně však může použitím popsané techniky zobrazit mnohé vztahy při systematickém studiu látek a materiálů, například u jejich anizotropie, které jsou často obtížně dokazatelné jinými postupy.

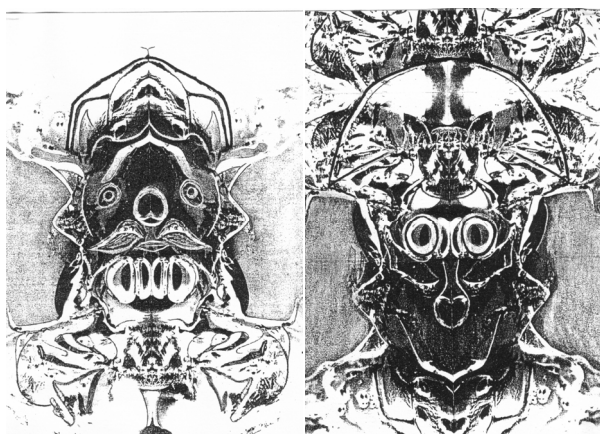


Obr. 1. **Jednorázové modelování**, a – schématické způsoby jednorázového modelování, b – reálný výsledek jednorázového modelování, c – další příklad způsobu modelování



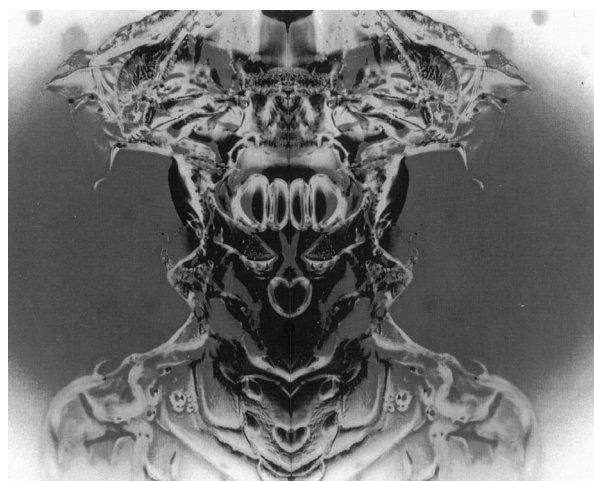
Obr. 2. Schéma pracovní stanice

Dosažitelná rozmanitost světelných a především barevných kombinací dovoluje, aby jak v zájmu studia materiálu, tak i tvůrčího záměru v uměleckém použití mohla být barevnost detailně ovládána případně i potlačena tak, aby vynikly žádoucí strukturální obrazce anebo obrazce výtvarně zajímavé a poutavé. Takové situace je možno účelově oddělovat zejména u struktur vícevrstvých, kde se oboje využití často doplňují nebo i kombinují. Takto zjednodušená zobrazení tvoří svým výrazně odlišným způsobem grafické výpovědi a vyjadřování samostatnou skupinu s několika metodicky různými způsoby zpracování a reprodukce (viz obr. 3).



Obr. 3. Dva pohledy na tutéž strukturu, vybarvenou; pokaždé z jiné strany

Často vznikají zobrazení (v uměleckém užití i jejich kompozice), kdy materiály (zejména s výraznějším sklonem ke krystalizaci) se formují podle vlastních zákonů, zatímco autorova zamýšlená kompozice zůstává omezena spíše na tvary základní, často amorfní a rámcové, anebo na výrazné tvary charakteristické, vyplývající z anticipované výtvarné koncepce. V uměleckém použití této techniky se



Obr. 4. Další varianta námětu z obr. 3

pak často sahá k jemné retuši.

Při podobných uměleckých úpravách se logicky výrazně uplatňuje osobní dovednost a zkušenosti s přirozeným chováním krystalů rostoucích v rozmanitých podmínkách. Zvláště se uplatní také osobní fantazie a směr, kterým jsou úpravy systematicky vedeny. Proto retušovaná zobrazení (fotoobrazy) kde zásah je veden v protichůdném směru, zřídka bývají shodné a vytvářejí s původním barevným „originálem“ tématicky spřízněnou, sepjatou trojici tří variant jednoho a téhož námětu (viz obr. 3 a 4).

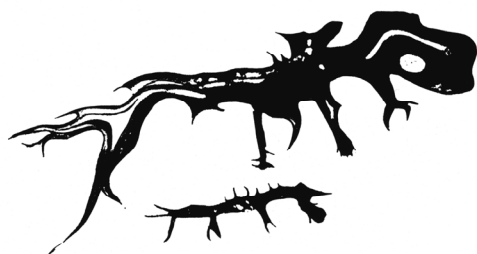
Samostatnou skupinu, občas se řídící vlastními zákony, představují fotoobrazy, u kterých na samém počátku jejich vzniku narazily viditelné důsledky modelujícího rázu na překážku, např. na okraj plastového bloku. V takových místech se často vytvoří krátká pásma odchýleně orientovaných drobných útvarů, které zdánlivě se zamýšlenou koncepcí základního fotoobrazu nemají mnoho společného. Nicméně je možné rozvinout jejich odlišnou tvarovou podstatu zavedením zrcadlové roviny a spojením dvou takto vzniklých satelitních kopií. To může pomoci zpracovat původní podobu prvotního plastového modelu



Obr. 5. Příklad zrcadlového spojení kopií



Obr. 6. Příklad složité anizotropie



Obr. 7. Umělecké ztvárnění černobílé fotografie

v nové podobě a pochopit původně bezvýznamné detaily primární kompozice v novém kontextu (viz obr. 5).

Praktickým příkladem může být zkoumání vzorků peracetylované a parciálně acetylované celulosy ve směsích různých organických rozpouštědel, do kterých je přidán materiál, který ve směsi může začít krystalovat. Jiný případ je další přísada, která změní vzájemnou mísitelnost (rozpustnost) komponent. Výsledek pak bude značně záviset jak na tom, zda vznikne pravý či nepravý roztok, ale

i na tom, zda vlivem prostředí nedojde ke tvorbě uspořádaných či supramolekulárních struktur. Na okrajích jejich domén pak dojde ke vzniku anizotropií, které výše popsaný systém znázorňuje, zkoumá, ale i používá k uměleckým cílům.

Strukturální fotografika se tak stává svěbytným oborem umělecké tvorby na straně jedné, ale může se stát i účinným nástrojem materiálových odborníků a badatelů zkoumajících anizotropie v materiálech na pomezí mezi pevnou hmotou a kapalinou a napomoci tak zobrazení poruch velmi jednoduchou a účinnou metodou.

Několik ukázek strukturální fotografiky z oblasti cílené do uměleckého světa přináší křídová příloha.

#### LITERATURA

1. <http://galerie.olympus.cz/hanzlik/han.htm>, staženo 29.2. 2004.
2. [http://rabasgallery.cz/k\\_v/vystava\\_info.php?jazyk=cz&what=3&file=xml/19980402-sila\\_a\\_svetlo\\_klihova\\_grafika\\_jirih\\_hanzlika.xml](http://rabasgallery.cz/k_v/vystava_info.php?jazyk=cz&what=3&file=xml/19980402-sila_a_svetlo_klihova_grafika_jirih_hanzlika.xml), staženo 29.2. 2004.
3. [http://www.grafika.cz/art/spolecnost/edita\\_hanzlik.html](http://www.grafika.cz/art/spolecnost/edita_hanzlik.html), staženo 29.2. 2004.
4. Matys R.: *Fotografie 2*, 52 (2002).
5. Lisý J.: *Nové obory grafiky*. UVU a ČFVU, Praha 1991.
6. Hanzlík J.: *Sila a světlo*. <http://www.wwg.cz>, staženo 10.5. 2004.

**J. Hanzlík** (*Vinohradská 85, Praha*): **Structural Photographics - A Tool for Imaging and Study of Anisotropic Materials**

The review deals with the conditions of occurrence of characteristic domains formed in modelling solidifying plastics. In addition to their aesthetic value, the domain shape can contribute to investigation of processes proceeding in the course of solidification or pressure transformation of gel layers.

## UPLATNĚNÍ ELEKTROCHEMICKÝCH METOD V CERTIFIKAČNÍCH ANALÝZÁCH REFERENČNÍCH MATERIÁLŮ

PETRA ČÍŽKOVÁ a PAVEL MADER†

*Katedra chemie, Agronomická fakulta, Česká zemědělská univerzita v Praze, Kamýčká 957, 165 21, Praha 6 – Suchbátka  
cizkova@af.czu.cz*

Došlo 20.11.03, přepracováno 16.9.04, přijato 30.9.04.

Klíčová slova: elektrochemické metody, referenční materiál, certifikační analýzy

### Obsah

1. Úvod
2. Role referenčních a certifikovaných referenčních materiálů
3. Certifikační analýzy biologického materiálu
4. Certifikační analýzy vod
5. Závěr

### 1. Úvod

V oblasti stopové analýzy se vyvíjejí stále nové a dokonalejší instrumentální techniky, založené na různých fyzikálně-chemických principech, pro monitorování stavu životního prostředí. A tak elektrochemickým metodám, které patřily mezi jedny z prvních technik používaných pro analýzy stopových množství rizikových prvků, dnes významně konkurují další, především různé spektrometrické techniky.

Mezi hlavní požadavky na metody používané ve stopové analýze patří vysoká citlivost, selektivita, přesnost a správnost. Dále rychlost, automatizovatelnost a v neposlední řadě i využitelnost pro širokou paletu látek, čemuž elektrochemické metody často dobře vyhovují. Údaj o celkové koncentraci daného kovu ve vzorku sice poskytuje určitý obraz, ale nepodává dostatečnou informaci týkající se jeho toxicity nebo míry, v níž vstupuje do živého systému. Proto jsou pro pochopení biochemického koloběhu prvků a jejich toxicity potřebná tzv. speciální měření, při kterých se bere do úvahy nejen celková koncentrace, ale i podíl jednotlivých oxidačních či obecně chemických forem daného prvku. Moderní polarografické/voltametrické techniky, především pak elektrochemická rozpouštěcí analýza, patří mezi vhodné metody pro speciaci stopových kovů v různých matricích.

Výhody a nevýhody používání elektroanalytických metod v rutinních laboratořích pro stopovou prvkovou analýzu jsou často předmětem diskusí. Jejich specifický

fyzikální princip jim však bezesporu zaručuje ideální uplatnění při certifikačních analýzách referenčních materiálů, zejména pak matricových referenčních materiálů, kde je žádoucí využít více analytických technik s odlišnými principy.

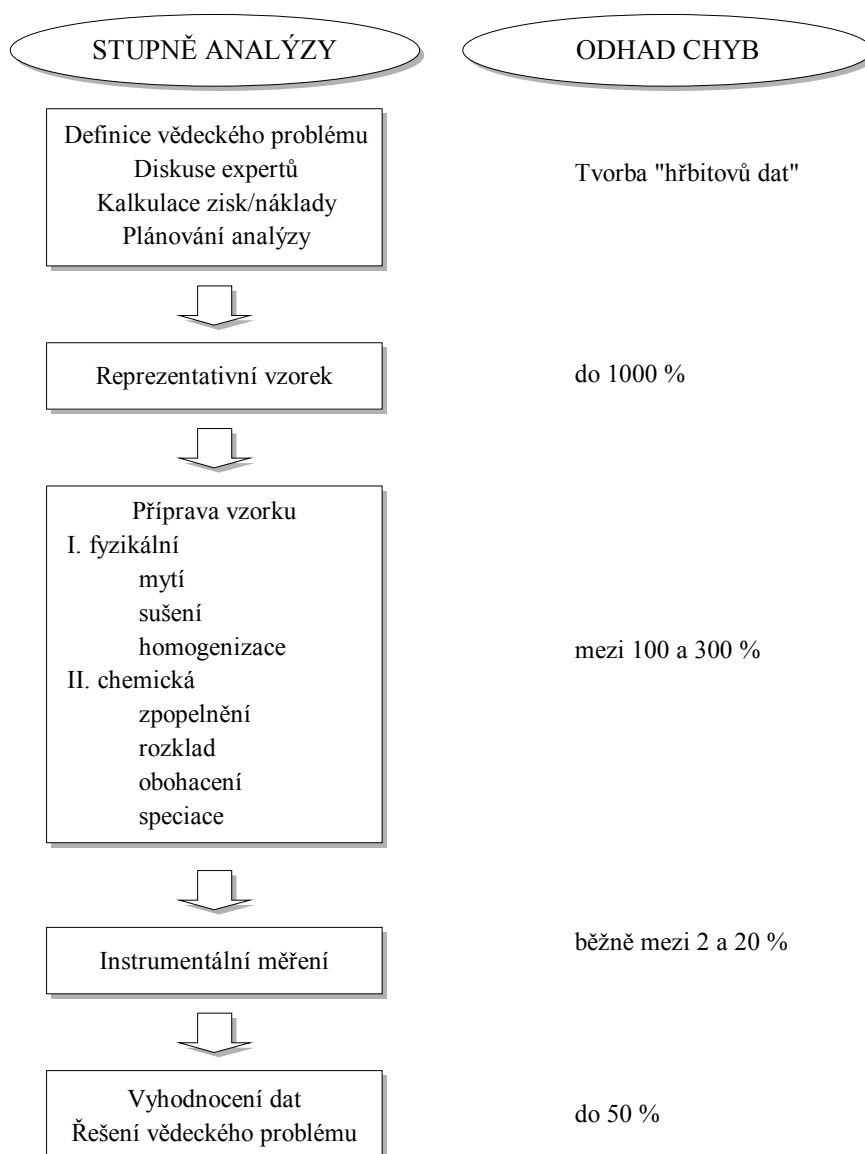
### 2. Role referenčních a certifikovaných referenčních materiálů

Analytické laboratoře musí vedle produkce analytických výsledků deklarovat i jejich spolehlivost a věrohodnost. Důležitou roli zde hraje zavádění systémů zabezpečení a řízení jakosti (quality assurance/quality control), které mj. vyžadují validaci celého analytického procesu, prezentovaného v podobě standardního operačního postupu (SOP), a zajištění návaznosti výsledků analýz včetně odhadu nejistoty výsledku. K tomu je používání certifikovaných referenčních materiálů nepostradatelným nástrojem.

Podle definic mezinárodního metrologického slovníku<sup>1,2</sup>: „Referenční materiál (RM) je materiál nebo látka, jejíž jedna nebo více hodnot vlastností je dostatečně homogenní a dobře stanovená, aby mohl(a) být použit(a) ke kalibraci přístroje, posouzení měřicí metody nebo k přiřazení hodnot materiálům. Certifikovaný referenční materiál (CRM) je referenční materiál doprovázený certifikátem, jehož jedna nebo více hodnot vlastností je certifikována postupem, který vytváří návaznost na správnou realizaci jednotky, v níž jsou hodnoty vlastností vyjádřeny, a jehož každá certifikovaná hodnota je doprovázena nejistotou při uvedené úrovni spolehlivosti.“

Dostatečně citlivá měřicí technika je bezesporu klíčovou složkou analytického procesu. Ale je třeba si uvědomit, že stupeň instrumentálního měření je součástí více-složkového systému (obr. 1). Velmi důležitá je i příprava vzorku před samotným měřením a následně zpracování naměřených dat. Jak je ukázáno na obr. 1, tyto dva stupně mohou způsobit mnohem větší chybu než samotný stupeň měření, tudíž by jim měla být věnována přinejmenším srovnatelná pozornost jako instrumentálnímu měření. Proto se RM popř. CRM používají při validaci celého analytického procesu popsaného v SOP. Shodným či podobným složením matrice jako má reálný vzorek může RM napomoci k odhalení slabiny metody, což má za následek zdokonalení metody a tím i větší spolehlivost výsledků. Pravidelné používání RM umožňuje vytvářet regulační diagramy, které slouží ke zjištění momentu, kdy analytický systém přestává být v mezích statistické regulace. Lze nalézt i další oblasti, kde může být využívána matrice RM pro zkvalitnění analýzy (např. kalibrace).

Volba vhodného CRM či RM vyžaduje přístup k informacím o dostupnosti a vlastnostech těchto materiálů. Problematikou referenčních materiálů se již více než 25



Obr. 1. Základní postup anorganické analýzy vzorků životního prostředí, včetně hrubého odhadu chyb pro jednotlivé analytické stupně<sup>3</sup>

let zabývá výbor pro referenční materiály – Mezinárodní organizace pro standardizaci a měření ISO-REMCO (The Reference Materials Committee of International Organization for Standardization and Measurement), sídlící ve švýcarské Ženevě. Tento výbor vytvořil mj. databázi COMAR, která eviduje v současné době přes 10 000 referenčních materiálů. Až do začátku roku 2003 byla databáze COMAR dostupná pouze formou licence, správcem této databáze v ČR byla organizace EURACHEM-ČR. Od března letošního roku je databáze na internetu volně přístupná všem zájemcům na adrese [www.comar.bam.de](http://www.comar.bam.de). Bližší údaje o struktuře databáze COMAR lze nalézt v článku<sup>4</sup>. Dalším zdrojem informací je nově připravovaná databáze VIRM (Virtual Institute for Reference Materials)

na webové stránce [www.virm.net](http://www.virm.net).

### 3. Certifikační analýzy biologického materiálu

Na certifikační analýzy RM jsou kladeny speciální požadavky<sup>5</sup>. Především může zúčastněná laboratoř používat pouze validovaných metod. Je žádoucí, aby se certifikačního procesu zúčastnilo více pracovišť a použilo více analytických metod využívajících rozdílných fyzikálních principů. Z tohoto hlediska vytvářejí elektrochemické metody skupinu, která poskytuje zcela nezávislé výsledky vůči všem ostatním metodám, což lze považovat za významnou přednost těchto metod a jeden z hlavních důvo-



Tabulka I

Zastoupení elektroanalytických metod použitých při certifikaci vybraných biologických CRM různého původu (zdroj: certifikační zprávy)

| Kód                   | Referenční materiál          | Rok  | Prvky s certifikovanou hodnotou <sup>c</sup> |      |      |      |       |      |
|-----------------------|------------------------------|------|--|------|------|------|-------|------|
|                       |                              |      | Cd   | Cu   | Hg   | Ni   | Pb    | Zn   |
| BCR 679 <sup>a</sup>  | bílé zelí                    | 2001 | 1/16   | 1/15 | 0/8  | 1/23 | –     | 1/20 |
| BCR 278R <sup>a</sup> | tkáň škeble                  | 1998 | 1/9  | 1/9  | 0/4  | –    | 2/10  | 1/11 |
| BCR 185R <sup>a</sup> | hovězí játra                 | 1998 | 1/7  | 1/11 | 0/3  | –    | 2/9   | 1/12 |
| BCR 482 <sup>a</sup>  | lišejník                     | 1996 | 1/8  | 1/10 | 0/8  | 1/8  | 1/10  | 1/13 |
| BCR 422 <sup>a</sup>  | tresčí svalovina             | 1993 | 2/13   | 1/13 | 0/7  | –    | 0/6   | 1/17 |
| BCR 414 <sup>a</sup>  | plankton                     | 1993 | 3/9  | 3/17 | 0/6  | 4/9  | 3/10  | 2/15 |
| BCR 397 <sup>a</sup>  | lidské vlasy                 | 1991 | 4/15   | –    | 0/14 | –    | 4/16  | 1/14 |
| BCR 281 <sup>a</sup>  | jílek                        | 1988 | 3/9  | 3/14 | 0/11 | 2/14 | 4/17  | 1/14 |
| BCR 278 <sup>a</sup>  | tkáň škeble                  | 1988 | 5/15   | 5/23 | 0/11 | –    | 6/14  | 2/18 |
| BCR 279 <sup>a</sup>  | mořský salát                 | 1987 | 6/11   | 4/14 | –    | –    | 5/11  | 2/13 |
| BCR 186 <sup>a</sup>  | vepřové ledviny              | 1986 | 6/16   | 0/15 | 0/9  | –    | 5/16  | 0/19 |
| BCR 185 <sup>a</sup>  | hovězí játra                 | 1986 | 6/16   | 0/16 | 0/8  | –    | 5/15  | 0/20 |
| BCR 184 <sup>a</sup>  | hovězí svalovina             | 1986 | 6/14   | 2/17 | 0/7  | –    | 6/13  | 0/20 |
| BCR 62 <sup>a</sup>   | listy olivy                  | 1982 | 1/12   | 0/11 | 0/10 | –    | 0/10  | 0/11 |
| BCR 61 <sup>a</sup>   | rostlinný materiál           | 1982 | 1/13   | 0/11 | 0/10 | –    | 0/10  | 0/12 |
| BCR 60 <sup>a</sup>   | rostlinný materiál           | 1982 | 1/13   | 0/11 | 0/10 | –    | 0/10  | 0/11 |
| 12-3-12 <sup>b</sup>  | kal z čističky odpadních vod | 1996 | 3/30   | 1/36 | 0/20 | 1/30 | 3/33  | 1/37 |
| 12-2-05 <sup>b</sup>  | žitná mouka                  | 1991 | 11/40  | 4/45 | 0/20 | 3/22 | 11/39 | 4/48 |
| 12-2-04 <sup>b</sup>  | pšeničná mouka               | 1991 | 12/44  | 4/45 | 0/16 | 3/22 | 11/38 | 4/46 |
| 12-2-03 <sup>b</sup>  | vojtěška                     | 1989 | 7/24   | 6/35 | 0/12 | 2/14 | 7/25  | 5/31 |
| 12-2-02 <sup>b</sup>  | zelená řasa                  | 1989 | 5/21   | 4/32 | –    | 1/15 | 5/21  | 3/22 |
| 12-2-01 <sup>b</sup>  | hovězí játra                 | 1989 | 7/25   | 2/23 | 0/22 | –    | 7/22  | 1/22 |

<sup>a</sup> CRH připravený Komisí evropského společenství (BCR/IRMM – Bureau Communautaire de Référence/Institute for Reference Materials and Measurements), <sup>b</sup> Československý referenční materiál, <sup>c</sup> uvedený zlomek představuje poměr přijatých průměrů elektrochemických stanovení / celkový počet přijatých průměrů jednotlivých analýz při certifikačním procesu

dů, proč mohou elektrochemické metody s výhodou sloužit právě k certifikaci RM.

V první části této studie jsme se vzhledem k zaměření našeho pracoviště věnovali maticovým RM biologického původu. Naše pracoviště mělo možnost se v posledních 15 letech aktivně účastnit několika certifikačních analýz RM biologického původu i jejich samotné přípravy (několik příkladů viz<sup>6,7</sup>). Z této vlastní zkušenosti jsme získali dojem, že zastoupení elektroanalytických metod ve zmíněných analýzách biologických RM pozvolna ubývá

a v současné době je velice nízké. Tento náš názor jsme se pokusili potvrdit bližším studiem dané problematiky, k čemuž nám posloužily především certifikáty a certifikační zprávy jednotlivých RM. Omezili jsme se přitom na stanovení chemických prvků, obdobný přehled by však bylo možno připravit i pro řadu jiných analytů, které lze stanovit elektrochemicky (jejich přehled viz např.<sup>8</sup>).

Byly sledovány jak CRM připravené v západní Evropě (<http://www.irmm.jrc.be/>) a USA (<http://www.nist.gov/>), tak i domácí CRM vzniklé ve spolupráci

Tabulka II

Zastoupení elektroanalytických metod použitých při certifikaci vybraných biologických CRM různého původu (zdroj: certifikáty)

| Kód                      | Referenční materiál                | Rok  | Prvky s certifikovanou hodnotou |    |    |    |    |    | E / M |
|--------------------------|------------------------------------|------|---------------------------------|----|----|----|----|----|-------|
|                          |                                    |      | Cd                              | Cu | Hg | Ni | Pb | Zn |       |
| SRM 1568a <sup>a</sup>   | rýžová mouka                       | 1995 | N                               | N  | N  | –  | –  | N  | 0/12  |
| SRM 1573a <sup>a</sup>   | listy rajčete                      | 1995 | N                               | N  | N  | N  | –  | N  | 0/12  |
| SRM 1570a <sup>a</sup>   | listy špenátu                      | 1994 | N                               | N  | N  | N  | –  | N  | 0/10  |
| SRM 1547 <sup>a</sup>    | listy broskve                      | 1993 | N                               | A  | N  | N  | N  | A  | 1/15  |
| SRM 1515 <sup>a</sup>    | listy jabloně                      | 1991 | –                               | A  | N  | N  | N  | A  | 1/15  |
| SRM 1577b <sup>a</sup>   | hovězí játra                       | 1991 | N                               | N  | –  | –  | N  | N  | 1/15  |
| SRM 1566a <sup>a</sup>   | tkáň ústřice                       | 1989 | A                               | A  | N  | N  | N  | A  | 1/15  |
| SRM 1567a <sup>a</sup>   | pšeničná mouka                     | 1987 | N                               | N  | –  | –  | –  | N  | 0/11  |
| SRM 1549 <sup>a</sup>    | sušené mléko, odstředěné           | 1985 | N                               | N  | N  | –  | N  | N  | 0/14  |
| SRM 1566 <sup>a</sup>    | tkáň ústřice                       | 1983 | A                               | N  | N  | A  | A  | A  | 1/8   |
| IAEA/RL/123 <sup>b</sup> | seno                               | 1985 | A                               | A  | N  | N  | A  | N  | 1/16  |
| IAEA/RL/69 <sup>b</sup>  | zvířecí svalovina                  | 1980 | A                               | A  | N  | N  | A  | N  | 1/9   |
| BCR 191 <sup>c</sup>     | tmavý chléb                        | 1987 | A                               | A  | –  | –  | A  | N  | 1/13  |
| BCR 189 <sup>c</sup>     | hrubá mouka                        | 1987 | A                               | A  | –  | –  | A  | N  | 1/13  |
| BCR 151 <sup>c</sup>     | obohacené sušené mléko, odstředěné | 1984 | A                               | A  | N  | –  | A  | –  | 1/12  |
| BCR 150 <sup>c</sup>     | obohacené sušené mléko, odstředěné | 1984 | A                               | A  | N  | –  | A  | –  | 1/12  |
| BCR 63 <sup>c</sup>      | sušené mléko, odstředěné           | 1984 | A                               | A  | N  | –  | A  | –  | 1/12  |

<sup>a</sup> CRM připravený Národním ústavem pro normalizaci a techniku, (NBS/NIST – National Bureau of Standards / National Institute of Standards and Technology, USA), <sup>b</sup> CRM připravený Mezinárodní agenturou pro atomovou energii (IAEA – International Atomic Energy Agency), <sup>c</sup> CRM připravený Komisí evropského společenství, [A] při certifikační analýze prvku použita elektrochemická metoda, [N] při certifikační analýze prvku nebyla použita elektrochemická metoda, [–] prvek nebyl součástí certifikační analýzy, [E] zastoupení elektrochemických metod při certifikační analýze, [M] celkový počet použitých metod při certifikační analýze

českých a slovenských analytických laboratoří. Výše zmíněný názor o ústupu elektrochemických metod z této oblasti dokládají tabulky I a II, které znázorňují zastoupení elektrochemických stanovení. Za nejčastěji využívanou metodu ze skupiny metod elektrochemických v této oblasti lze považovat diferenční pulzní anodickou rozpouštěcí voltometrii. Je třeba přihlídnout ke skutečnosti, že hloubka informací poskytnutých jednotlivými certifikačními zprávami se výrazně lišila, tudíž nelze vyloučit, že jedna a táž metoda je v různých pramenech označena různými názvy. Problém s poskytováním dostatečného množství informací jednotlivými laboratořemi není však zdaleka specifický pouze pro elektrochemickou obec, jak je zřejmé např. z publikace Nordberga a spolupracovníků<sup>9</sup>.

Obdobná situace je i u dalších producentů, například v Japonsku (<http://www.rminfo.nite.go.jp/english/>), kde se

elektrochemické metody používají pouze při certifikaci čistých kalibračních roztoků, při certifikaci matričních RM se již vůbec neuplatňují. Naskytá se tedy otázka, co je příčinou této situace a zda potenciál elektroanalytických metod při certifikačních analýzách nemůže být lépe využíván. Naše vlastní zkušenost při stanovení rtuti v kandidátním rostlinném RM, kterou jsme učinili v roce 1990 a opakovaně v roce 2000, by mohla částečně odpovědět na výše položenou otázku.

V roce 1989 byl v naší laboratoři připraven první československý biologický CRM (cit.<sup>6</sup>). Během následujících příprav a certifikací několika dalších kandidátních CRM (cit.<sup>7</sup>) jsme získali v jednom případě rostlinné matrice velice dobrý soubor analytických výsledků při stanovení rtuti z cca 10 rozdílných laboratoří, který měl však jeden základní nedostatek: s jedinou výjimkou (NAA – neutro-

nová aktivační analýza) byla všechna ostatní data získána stejnou metodou (AAS – technika studených par). V té době (20. – 25.8.1990) se v Praze konal *Kongres o polarografii u příležitosti 100. narozenin J. Heyrovského společnosti s 41. setkáním Mezinárodní elektrochemické společnosti*. Využili jsme tedy příležitosti a oslovili účastníky obou elektrochemických konferencí, zda by se nepřidali k naší certifikační analýze pro stanovení rtuti. Obdrželi jsme 5 kladných odpovědí, všechny však byly podmíněny dodáním již zmineralizovaného biologického materiálu. Žádný účastník nebyl ochoten přijmout lahvičku s 20 g sušeného, mletého, homogenizovaného a  $\gamma$ -zářením stabilizovaného podílu kandidátního rostlinného materiálu. Obdobnou zkušenost jsme učinili i na *Symposiu na paměť J. Heyrovského* (Praha, 30.8. – 1.9.2000). Zde si od nás dva kolegové z různých zahraničních pracovišť lahvičku se zeleným práškem převzali, dosud jsme však od nich žádný analytický výsledek neobdrželi.

Je tedy zřejmé, že elektroanalytické metody vyžadují náročnější rozklad biologického materiálu než většina ostatních metod. Zůstává otázkou, zda je tato skutečnost (neplatí však ve všech případech, jak uvádí např. diskuse<sup>10</sup>) dostatečným důvodem k nepoužívání elektrochemických metod při certifikačních analýzách matričních RM.

#### 4. Certifikační analýzy vod

Proto jsme se ve druhé části naší studie zaměřili na RM s jednodušší maticí – vodu. Lze předpokládat, že příprava vzorků vod k analýze vyžaduje méně náročný postup než u biologických materiálů<sup>11</sup>, objevuje se však jiný problém, totiž omezená stabilita CRM. Využívání těchto CRM v běžných rutinních laboratořích se ukazuje jako poměrně finančně náročné, a proto méně rozšířené. Častěji se používá standardních kalibračních roztoků příslušných prvků rozpuštěných ve zředěné minerální kyselině. Nalézt potřebné materiály pro tuto část studie

bylo proto mnohem obtížnější.

Údaje o elektrochemických metodách v certifikátech stopových prvků ve vodách jsou velmi odlišné. Tak např. CRM 403 připravený Komisí evropského společenství, který deklaruje obsah Cd, Cu, Ni a Zn v mořské vodě, uvádí celkem 11 různých použitých metod při certifikační analýze; pět z nich patří do skupiny metod elektrochemických (viz tabulka III). U jiných CRM je většinou zastoupena pouze diferenční pulzní anodická rozpouštěcí voltametrie, případně elektrochemie ve výčtu použitých metod zcela chybí.

#### 5. Závěr

Naskytá se otázka, co je tedy příčinou překvapivě malého využívání elektroanalytických metod při certifikačních analýzách a zda potenciál této významné skupiny metod nemůže být lépe využíván. Vývoj a zdokonalování, spolu se stále větším uplatněním výpočetní techniky v posledních letech, se samozřejmě úzce dotkl i elektrochemických metod. Že jsou jejich výsledky srovnatelné např. s výsledky AAS ukazuje článek<sup>13</sup>. Snaha o širší uplatnění těchto metod v rutinní praxi byla podpořena vydáním normy TNV 75 7389 *Jakost vod – stanovení rozpouštěné mědi, olova, kadmia, selenu, thallia, kobaltu, niklu, chromu a rtuti rozpouštěcí (stripping) voltametrií*. Lze jen doufat, že stejný průlom nastane i v certifikačních analýzách RM a elektroanalytické techniky jako zcela samostatné a principiálně odlišné metody se opět stanou plnohodnotným nástrojem v této oblasti.

*Tato studie vznikla s podporou grantu Českého ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy č. MSM 412100004 a grantu GA ČR 525/02/0301.*

Tabulka III

Metody použité při certifikační analýze CRM 403<sup>12</sup>

Adsorpční diferenční pulzní katodická rozpouštěcí voltametrie (Cd, Cu)

Katodická rozpouštěcí voltametrie (Mo, Ni)

Diferenční pulzní anodická rozpouštěcí voltametrie (Cd, Cu, Pb)

Diferenční pulzní katodická rozpouštěcí voltametrie (Zn)

Elektrotermická atomová absorpční spektrometrie (Cd, Cu, Pb, Ni)

Elektrotermická atomová absorpční spektrometrie se Zeemanovou korekcí pozadí (Cd, Cu, Pb, Mo, Ni, Zn)

Plamenová atomová absorpční spektrometrie (Zn)

Průtoková potenciometrická rozpouštěcí analýza (Cd, Cu, Pb)

Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (Mo)

Isotopová zředovací hmotnostní spektrometrie (Cd, Cu, Pb, Zn)

Rentgenová fluorescence s totálním odrazem (Cu, Pb, Ni, Zn)

## LITERATURA

1. ČSN 01 0115: *Mezinárodní slovník základních a všeobecných termínů v metrologii*. Praha 1996.
2. Barek J., Jánoš P., Koruna I., Meloun M., Plzák Z., Skácel F., Suchánek M., Tichý J., Vilímeček J., Vláčil F., Zima T.: *Chem. Listy* 94, 439 (2000).
3. Markert B., v knize: *Trace Elements in Water, Air, Soils and Plants* (Adriano D.C., Page A. eds.). CRC Press, Boca Raton 1993.
4. Suchánek M., Plzák Z., Mestek O.: *Chem. Listy* 89, 89 (1995).
5. ISO Guide 35: *Certification of Reference Materials – General and Statistical Principles*. Brusel 1989.
6. Kučera J., Mader P., Miholová D., Cibulka J., Poláková M., Kordík D.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 338, 66 (1990).
7. Miholová D., Mader P., Száková J., Slámová A., Svatoš Z.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 345, 256 (1993).
8. Barek J., Fogg A. G., Muck A., Zima J.: *Crit. Rev. Anal. Chem.* 31, 291 (2001).
9. Nordberg G., Brune D., Gerhardsson L., Grandjean Ph., Vesterberg O., Wester P. O.: *Sci. Total Environ.* 120, 17 (1992).
10. Mader P., Száková J., Čurdová E.: *Talanta* 43, 521 (1996).
11. Mader P., Čurdová E.: *Chem. Listy* 91, 227 (1997).
12. BCR, *Certificate of Analysis CRM 403*. Brusel 1991.
13. Šestáková I., Miholová D., Slámová A., Mader P., Száková J.: *Electroanalysis* 6, 1057 (1994).

**P. Čížková and P. Mader<sup>†</sup>** (*Department of Chemistry, Faculty of Agronomy, Czech Agricultural University, Prague*): **Application of Electrochemical Methods in Certification Analyses of Reference Materials**

The study is based on the author's experience obtained recently in certification analyses and preparation of reference materials of biological origin. The main problem of inefficient application of electroanalytical methods in the field consists in their considerable requirements for decomposition of biological materials.

Odborná skupina Chemie a technologie sacharidů ČSCH  
a Ústav chemie a technologie Vysoké školy chemicko-technologické v Praze

pořádají přednášky

**Profesora Antonio S. Barrose** (*Univerzita v Aveiru, Chemický ústav, Portugalsko*)

s názvem

**„Chemometrics applied to food chemistry instrumental data“**

Přednášky proběhnou ve dnech 21. až 22. března 2005 od 14,00 h do 18,00 h v místnosti č. 40 a 23. března dopoledne v místnosti č. 48 budovy B Vysoké školy chemicko-technologické, Technická 3, 166 28 Praha 6.

## CHLOROVANÉ FENOLY A ZPŮSOBY JEJICH DEGRADACE

LEONA VLKOVÁ a VLADIMÍR CÍRKVA

Ústav chemických procesů, AV ČR, Rozvojová 135, 165 02  
Praha 6  
vlkova@icpf.cas.cz

Došlo 2.2.04, přepracováno 16.6.04, přijato 9.11.04.

Klíčová slova: chlorované fenoly, dechlorace, destrukce, detoxifikace, PCDD/F

### Obsah

1. Úvod
2. Vlastnosti chlorovaných fenolů
  - 2.1. Fyzikálně chemické vlastnosti
  - 2.2. Toxikologické vlastnosti
3. Původ chlorovaných fenolů v životním prostředí
4. Degradace a odstraňování chlorfenolů
  - 4.1. Fyzikální metody
  - 4.2. Chemické metody
  - 4.3. Elektrochemické zpracování a  $\gamma$ -ozářování
  - 4.4. Fotochemické zpracování
  - 4.5. Mikrobiální degradace
5. Závěr

### 1. Úvod

Vzhledem k širokému výskytu a persistenci chlorovaných fenolů v životním prostředí a k jejich negativnímu vlivu na živé organismy, je problematika spojená s nimi častým tématem mnoha environmentálně zaměřených prací. Chlorované fenoly tvoří součást reziduí pesticidních, herbicidních a fungicidních přípravků, jsou přítomny v průmyslových exhalacích a v odpadních vodách. Ve značné míře vznikají rovněž jako vedlejší produkt chlorace ligninu při výrobě papíru. Chlorfenoly jsou také prekurzory vzniku PCDD/F (polychlorovaných dibenzodioxinů/furanů), které se řadí mezi nejtoxičtější látky.

Dnes existuje poměrně mnoho metod, kterými lze degradovat chlorované fenoly na produkty přijatelnější pro životní prostředí. V množství literatury, která popisuje širokou škálu těchto metod, je však poněkud ztížená orientace. Dosud nebyl publikován článek, který by shrnoval možné způsoby degradace chlorovaných fenolů, jimiž lze remediaci životního prostředí realizovat.

### 2. Vlastnosti chlorovaných fenolů

#### 2.1. Fyzikálně chemické vlastnosti

Na aromatickém jádře chlorfenolů (CP) je vázána reaktivní hydroxylová skupina, zbývající polohy jsou substituovány jedním až pěti atomy chloru (monoCP až penta-CP). Může tak vznikat 19 isomerů s rozdílnými fyzikálními a chemickými vlastnostmi, kde poloha atomu chloru vzhledem k hydroxylové skupině hraje zásadní roli (tabulka I). Za normálních podmínek jsou chlorfenoly krystalické látky, mající bod varu nad 200 °C, kromě kapalného 2-monoCP s bodem varu 175 °C. Z hlediska disociace se jedná o slabé kyseliny, jejichž disociační konstanta ( $K_a$ ) obecně vzrůstá s počtem chlorových substituentů. S rostoucím počtem atomů chloru se snižuje rozpustnost chlorfenolů ve vodě (roste hydrofobní charakter). Schopnost adsorpce na povrchu nepolárních látek roste s klesající hodnotou  $pK_a$  (tj. s počtem atomů chloru).

#### 2.2. Toxikologické vlastnosti

Chlorfenoly mají charakteristický pronikavý a štiplavý zápach, jsou nehořlavé, při vyšších teplotách se rozkládají na CO, CO<sub>2</sub> a HCl. Silně dráždí sliznice, oči a vstřebávají se kůží. Toxicita chlorfenolů spočívá v jejich schopnosti rozpojit oxidační fosforylaci v dýchacím řetězci a ukončit tak přeměnu ADP na ATP, čímž mohou být ovlivněny všechny aerobní eukaryontní formy života. Všeobecně lze říci, že chlorfenoly jsou imunotoxické, fyto-toxické, embryotoxické, ale určitě nejsou neurotoxické a teratogenní. Mutagenní a karcinogenní účinky nebyly prokázány.

V efektu na toxicitu nejsou všechna substituční místa na fenolu rovnocenná. Zjednodušeně platí, že s rostoucím stupněm chlorace se zvyšuje toxicita chlorfenolů (tabulka I, IC<sub>50</sub>), a to především vlivem jejich lepší rozpustnosti v tucích. Distribuce molekul mezi lipidní a vodnou fází je také důležitým aspektem pro jejich akumulaci v životním prostředí. Tuto vlastnost charakterizuje rozdělovací koeficient oktanol/voda  $K_{o/w}$ , který modeluje chování a transport organických látek v životním prostředí. Z termodynamického hlediska je pak tento koeficient definován jako poměr molární koncentrace látky v oktanolu nasyceném vodou  $c_s^o$  k molární koncentraci látky ve vodě nasyceném oktánolem  $c_s^w$  za rovnovážných podmínek, tj.  $K_{o/w} = c_s^o/c_s^w$ .

Poloha chlorových atomů na aromatickém jádru u chlorfenolů ovlivňuje účinnost mikrobiálního odbourávání tak, že sloučeniny substituované v poloze *meta* (3-monoCP a 3,5-diCP) jsou více rezistentní k mikrobiální degradaci a tudíž více toxické, než sloučeniny substituované v poloze *ortho* (2-monoCP a 2,6-diCP). Nižší toxicita u *ortho*-substituovaných chlorfenolů je přisuzována vodíkové vazbě a stínění skupiny OH chlorem. Platí, že

Tabulka I  
Některé vlastnosti chlorovaných fenolů

| Chlorovaný fenol | B.v. <sup>a</sup><br>[°C] | B.t. <sup>c</sup><br>[°C] | Rozpustnost<br>(pH) <sup>e,l</sup><br>[g.l <sup>-1</sup> ] | pK <sub>a</sub> <sup>i,l</sup> | log K <sub>o/w</sub><br>(25 °C) <sup>m</sup> | IC <sub>50</sub> <sup>s</sup><br>(20 °C) <sup>q</sup><br>[mg.l <sup>-1</sup> ] |
|------------------|---------------------------|---------------------------|--|--------------------------------|--|--|
| pentaCP          | 309–310                   | 173–174                   | 0,018 (4,8)  | 4,74 <sup>e</sup>              | 5,12 <sup>n</sup>                            | 0,76   |
| 2,3,4,5-tetraCP  | 275 <sup>b</sup>          | 116–117                   | 0,166 (4,9)  | 5,64 <sup>j</sup>              | 4,69 <sup>o</sup>                            | 1,76   |
| 2,3,4,6-tetraCP  | 275 <sup>b</sup>          | 69–70                     | 0,166 (4,6) <sup>h</sup>                                   | 5,22 <sup>h</sup>              | 4,45 <sup>o</sup>                            | 2,7 <sup>r</sup>   |
| 2,3,5,6-tetraCP  | 275 <sup>b</sup>          | 114–115                   | 0,100 (5,0)  | 5,03 <sup>k</sup>              | 4,90 <sup>p</sup>                            | 2,27   |
| 2,3,4-triCP      | 257 <sup>c</sup>          | 79–81                     | 0,915 (5,1)  | 7,34                           | 4,07   | 2,24   |
| 2,3,5-triCP      | 253–254                   | 61–62                     | 0,771 (4,7)  | 6,92                           | 4,21   | 2,28   |
| 2,3,6-triCP      | 257 <sup>c</sup>          | 57–58                     | 0,591 (4,5)  | 6,10                           | 3,88   | 7,38   |
| 2,4,5-triCP      | 252–253                   | 68–70                     | 0,649 (4,9)  | 7,20                           | 3,72   | 2,08   |
| 2,4,6-triCP      | 245–246                   | 69–70                     | 0,708 (4,7)  | 6,51                           | 3,69   | 5,47   |
| 3,4,5-triCP      | 276–277                   | 100–101 <sup>f</sup>      | –  | 7,57                           | 4,39   | 0,88   |
| 2,3-diCP         | 206 <sup>d</sup>          | 58–60                     | 8,215 (4,9)  | 8,52                           | 3,19   | 5,19   |
| 2,4-diCP         | 209–210                   | 42–43                     | 5,547 (5,1)  | 8,51                           | 3,08   | 2,68   |
| 2,5-diCP         | 210–211                   | 55–57 <sup>e</sup>        | –  | 7,69                           | 3,20   | 4,5 <sup>r</sup>   |
| 2,6-diCP         | 219–220                   | 65–68                     | 2,625 (4,5)  | 7,15                           | 2,86   | 9,38   |
| 3,4-diCP         | 253–254                   | 66–68                     | 9,256 (5,1)  | 8,87                           | 3,37   | 2,77   |
| 3,5-diCP         | 232–233                   | 67–69                     | 7,394 (4,7)  | 8,54                           | 3,52   | 2,09   |
| 2-monoCP         | 174–175                   | 8–10                      | 23,256 (4,8)   | 9,13                           | 2,17   | 17,95  |
| 3-monoCP         | 213–214                   | 33–34                     | 22,190 (4,6)   | 9,53                           | 2,50   | 15,78  |
| 4-monoCP         | 219–220                   | 43–44                     | 26,390 (4,6)   | 9,70                           | 2,35   | 8,07   |

<sup>a</sup> Cit.<sup>1</sup>; <sup>b</sup> vypočteno z Antoinovy konstanty (cit.<sup>1,2</sup>); <sup>c</sup> průměr hodnot jiných trichlorfenolů (cit.<sup>1</sup>); <sup>d</sup> cit.<sup>3</sup>; <sup>e</sup> cit.<sup>4</sup>; <sup>f</sup> cit.<sup>5</sup>; <sup>g</sup> cit.<sup>6</sup>; <sup>h</sup> cit.<sup>7</sup>; <sup>i</sup> cit.<sup>8</sup>; <sup>j</sup> cit.<sup>9</sup>; <sup>k</sup> cit.<sup>10</sup>; <sup>l</sup> měřeno při 25 °C ve vodě; <sup>m</sup> cit.<sup>8</sup>; <sup>n</sup> cit.<sup>11</sup>; <sup>o</sup> cit.<sup>12</sup>; <sup>p</sup> cit.<sup>13</sup>; <sup>q</sup> *Daphnia magna* (cit.<sup>14</sup>); <sup>r</sup> hodnoty určené analýzou QSAR, <sup>s</sup> IC<sub>50</sub> – inhibiční koncentrace – koncentrace, při které dochází k zamezení růstu 50 % sledovaných jedinců

v jakékoli isomerní skupině kongenerů jsou toxicitější ty, které mají chlor v poloze *para* (4-monoCP). Je-li dále chlor v poloze *meta* (3,5-diCP a 3,4,5-triCP), je toxicita ještě vyšší.

### 3. Původ chlorovaných fenolů v životním prostředí

Vlivem stálosti a vysoké bioakumulace jsou chlorfenoly rozšířeny ve všech sférách životního prostředí. Je prakticky nemožné je nenáležet ve vodě, sedimentech, půdách i živých organismech. Drtivá většina znečištění pochází z antropogenní činnosti. Všudypřítomnost chlorfenolů je dána jejich širokým použitím v mnoha oblastech průmyslu i zemědělství.

Průmyslová syntéza chlorfenolů (Schéma 1) je především založena na dvou základních postupech, a to na katalytické chloraci fenolu<sup>15-17</sup> nebo na alkalické hydrolyze odpovídajících chlorbenzenů<sup>18,19</sup>.

Některé chlorfenoly slouží jako intermediáty pro výrobu herbicidů (2,4-D; 2,4,5-T; 2,4,5-TP; Triadimefon) či dezinfekčních prostředků (Triclosan, Hexachlorophene) (Schéma 2). Monochlorfenoly se využívají především jako

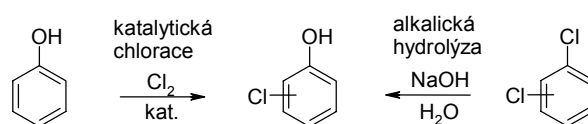


Schéma 1. Průmyslová výroba chlorovaných fenolů

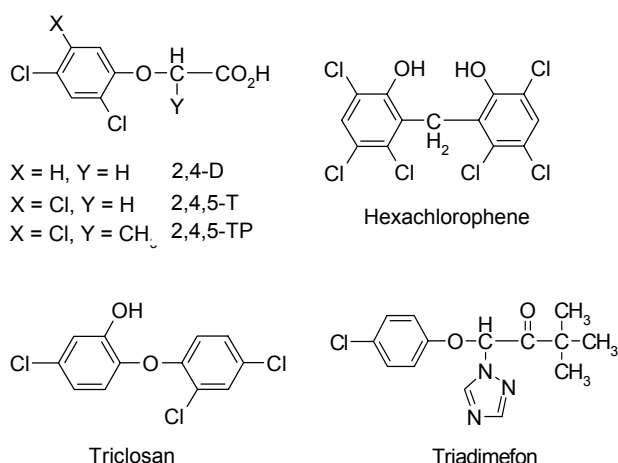


Schéma 2. Příklady herbicidů a dezinfekčních prostředků

výchozí látky pro přípravu vyšších chlorfenolů nebo jako rozpouštědla (extrakce síry z uhlí, rafinace olejů).

Chlorfenoly jako skupina byly používány v širokém spektru biocidů. Specificky byly aplikovány jako herbicidy, pesticidy, fungicidy, algicidy, insekticidy, ovidy, baktericidy a moluskicidy. Širokého využití se jim dostalo rovněž v domácnostech. Hlavní uplatnění vyšších chlorfenolů v praxi je např. při ochraně dřeva před houbami, při impregnaci textilních látek, barev, laků, kůže či při zpracování celulosy.

Chlorfenoly vznikají v životním prostředí také nepřímo, a to z fenolu při chloraci odpadních vod, při degradaci herbicidů, při odbourávání bakteriemi v půdě, při spalování komunálního odpadu, mohou být přítomny ve výtocích při zpracování dřeva, celulosy a papíru.

Minoritní podíl chlorfenolů vyskytujících se v přírodě pochází z naturální činnosti, kde převažují<sup>20</sup> abiogenní procesy (vulkány, geo-projevy, lesní požáry) nad biogenními<sup>21,22</sup>, např. 2,6-diCP byl nalezen jako sexuální feromon u roztočů<sup>23</sup> a 2,5-diCP byl identifikován ve slinách kobylek<sup>24</sup>. Přírodní deriváty chlorfenolů vznikají jako produkty tlení dřeva houbami<sup>25</sup> či účinkem lidských myeloperoxidás při nemocích<sup>26</sup> (3-chlorotyrosin).

Většina zemí světa uznává nyní nutnost omezit či dokonce zakázat výrobu a použití některých chlorfenolů.

#### 4. Degradace a odstraňování chlorfenolů

Ekologická legislativa (Nařízení vlády č. 61/2003 Sb.) definuje hodnotu  $0,1 \text{ mg.l}^{-1}$  jako maximální přípustný limit pro vypouštění chlorfenolů do odpadních vod. Ve skutečnosti se však pohybují výtokové hodnoty<sup>28</sup> okolo  $100\text{--}1000 \text{ mg.l}^{-1}$ . Pro degradaci a odstraňování chlorfenolů bylo navrženo několik technologií<sup>29</sup>, které je možno rozčlenit do pěti skupin.

##### 4.1. Fyzikální metody

Fyzikální metody jsou vesměs nedestruktivní. Využívají procesu adsorpce nebo rozdílné distribuce látek mezi dvě různé fáze. Pro zpracování odpadních vod se využívá jak polárních, tak nepolárních sorbentů, kterými jsou například přírodní sedimenty<sup>30</sup>, hlíny typu aluminomontmorillonit<sup>31</sup>, pórovité látky jako je aktivní uhlí<sup>32</sup>, popílek<sup>33</sup> a bentonit<sup>34</sup>. Nevýhodou je potřeba následného zpracování sorbentů se zachycenými látkami. Řešením je následná oxidace chlorfenolů na povrchu<sup>35</sup>  $\text{MnO}_2$ .

Pro kontaminovanou zeminu ( $< 500 \text{ mg}$  chlorfenolů na  $1 \text{ kg}$ ) byla použita sanace destilací vodní parou<sup>36</sup>, kdy přehřátá vodní pára (teplota  $> 100 \text{ }^\circ\text{C}$ ) přechází přes okyselenou hlinu ( $\text{pH} < 2$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) a tvoří azeotropní směs s chlorfenoly. Po kondenzaci jsou látky ve vodě následně odbourávány metodami pro zpracování odpadních vod.

Jako efektivní nástroj pro zpracování většího množství odpadních výtoků se jeví zakoncentrování chlorfenolů extrakcí emulzní fází, která je tvořena vodou, NaOH, tenzidem (Span-80) a nepolárním solventem (kerosin). Tato emulze je vlastně kapalnou membránou, ve které se chlorfenoly<sup>37</sup> kvantitativně zachytí.

##### 4.2. Chemické metody

Podstatou chemických metod je chemická reakce, která vede k přeměně chlorfenolů na méně toxické produkty destruktivní nebo nedestruktivní cestou, přičemž je využíváno oxidačně redukčních pochodů. Široce používanou technologií pro destrukci chlorovaných aromátů je spalování. Vysoká teplota a delší čas jsou obvykle dostačující pro rozklad chlorfenolů. Nevýhodou je požadavek velmi citlivého nastavení podmínek spalování, tak aby v oblasti chlazení spalných plynů nevznikaly nežádoucí sekundární produkty jako PCB, PCDD/F (cit.<sup>38</sup>).

Oxidační činidla, zejména chlor, peroxid vodíku nebo ozon, jsou používána k oxidaci chlorfenolů v odpadních vodách<sup>39</sup>, kdy se účastní reakce hydroxylový radikál ( $\text{OH}$ ) (cit.<sup>40</sup>). Velmi vysokou oxidační schopností se vyznačují tzv. „Advanced Oxidation Processes“ (AOPs)<sup>41</sup>, které využívají kombinace několika oxidačních systémů:  $\text{UV}/\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{UV}/\text{O}_3$  nebo  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$  (Fentonovo činidlo)<sup>42</sup>. Při reakci chlorfenolů s peroxidem vodíku katalyzované modifikovaným aktivním uhlím<sup>43</sup> nebo tetrasulfoftalokyaninem železa<sup>44</sup> dochází k oxidační dechloraci za současného štěpení aromatického jádra. Produktem je směs fenolu, kyseliny chlormaleinové a chlorfumarové,  $\text{CO}_2$  a  $\text{Cl}^-$ .

Z průmyslových odpadních vod lze také chlorfenoly odstraňovat enzymaticky pomocí křenové peroxidasy (*horseradish peroxidase*, HRP)<sup>45</sup>, která v přítomnosti peroxidu vodíku katalyzuje oxidaci chlorfenolů. Takto jsou generovány fenoxylvé radikály  $\text{ArO}^\cdot$ , které spontánně tvoří nerozpustné sedimentující polymery.

Další možnou metodou je reduktivní dechlorace chlorfenolů, která využívá buď systémy hydridů ( $\text{LiAlH}_4$ - $\text{CeCl}_3$  (cit.<sup>46</sup>),  $\text{NaBH}_4$ - $\text{Cp}_2\text{TiCl}_2$  (cit.<sup>47</sup>),  $\text{NaBH}_4$ -tetraglym<sup>48</sup>,  $\text{NaBH}_2(\text{OC}_2\text{H}_4\text{OCH}_3)_2$ - $\text{NiCl}_2$  (cit.<sup>49</sup>)) nebo destrukci solvovanými elektrony ( $\text{Na}/\text{NH}_3$ ) (cit.<sup>50</sup>). V kapalně fázi lze

realizovat katalytickou dechloraci chlorfenolů přechodnými kovy<sup>51</sup> (Pd/C (cit.<sup>52</sup>), Pd/Fe (cit.<sup>53</sup>), Pt/C (cit.<sup>54</sup>), Rh/C (cit.<sup>55</sup>), Ni-Al klastry (cit.<sup>56</sup>), Ru/C (cit.<sup>57</sup>)). Zdrojem vodíku je voda, methanol, NaH či plynný vodík. Velmi reaktivní jsou systémy Fe<sup>0</sup> a Mg<sup>0</sup> v kombinaci s Pd a 2-propanolem<sup>58</sup>, kdy v případě pentachlorfenolu je produktem až cyklohexanol. V plynné fázi lze aplikovat pro triCP až monoCP katalytickou dechloraci na systémech Ni/SiO<sub>2</sub> (cit.<sup>59</sup>) nebo CuCl/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (cit.<sup>60</sup>). Jedná se o metodu nedestruktivní vůči C-C vazbám, a tím je předurčen jako hlavní produkt fenol.

K aktivaci vodných roztoků je často využíváno elektromagnetické vlnění o frekvenci 20-530 kHz (ultrazvuk). Toto záření produkuje na mikroskopické hladině teplo a tlak, dochází ke kolapsu kavitačních bublin. Tím je podporován vznik hydroxylových a vodíkových radikálů, které pak následně podle charakteru prostředí (vzduch, kyslík, argon, peroxid vodíku) oxidují či redukují pentaCP až na monoCP (cit.<sup>61</sup>).

#### 4.3. Elektrochemické zpracování a $\gamma$ -ozařování

Elektrochemické metody jsou založeny na elektrolýze vody. Nejrozšířenější je anodická oxidace<sup>62</sup>. Na anodě se adsorbuje hydroxylový radikál  $\cdot\text{OH}$ , který se dále velmi aktivně účastní destrukce chlorfenolů. Druhou možností, kterou elektrochemické metody poskytují, je využití chemisorpce vodíku na povrchu katody, kterou tvoří uzavřená uhlíková elektroda s Pd/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> či Rh/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Tato katalytická hydrogenace<sup>63</sup> probíhá v alkalickém prostředí za vzniku fenolu nebo cyklohexanolu.

Ionizující  $\gamma$ -záření (<sup>60</sup>Co) způsobuje rozklad vody a vznik reaktivních částic, tj. hydratovaného elektronu a hydroxylového radikálu<sup>64</sup>. Následně probíhá jednoelektronová redukce chlorfenolů na fenol.

#### 4.4. Fotochemické zpracování

Přímým ozařováním polychromatickým světlem dochází u chlorfenolů k rozkladným reakcím<sup>65,66</sup>. Transformace probíhají přes fotoexcitované stavy s následným homolytickým štěpením vazeb C-Cl a O-H za tvorby chlorfenoxylových radikálů. Redukční dechloraci vznikají méně chlorované fenoly. Adice hydroxylového radikálu vede ke vzniku katecholů, hydrochinonů a benzochinonů. V případě oxidace aromatického jádra je produktem dichlormaleinová kyselina. Nevýhoda této metody spočívá v možnosti vzniku PCDD/F (cit.<sup>27</sup>) a celkově je výkonnost mineralizace nízká. Další možností je využití fotochemického generování hydroxylového radikálu, který se ve výše zmíněných procesech AOP<sub>s</sub> (cit.<sup>40</sup>) uplatňuje při totální oxidaci látek. Kvalita mineralizačních systémů<sup>67</sup> klesá v řadě UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe<sup>2+</sup> > UV/O<sub>3</sub> > UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Velmi rozšířenou metodou degradace a mineralizace chlorfenolů<sup>68</sup> je fotokatalýza na povrchu polovodičů (TiO<sub>2</sub>, ZnO, ZrO<sub>2</sub>, MoO<sub>3</sub>). Nevýhodou je však nízký kvantový výtěžek a kontaminace fotokatalyzátoru. V přítomnosti fotosenzibilátorů (bengálská červeň, porfyriny, methyleno-

vá modř) probíhají fotooxidace chlorfenolů pomocí singletového<sup>69</sup> kyslíku <sup>1</sup>O<sub>2</sub>, který je velmi aktivním oxidačním činidlem.

#### 4.5. Mikrobiální degradace

Mikroorganismy mají schopnost čerpat z pestré palety chemikálií uhlík, který je nezbytný k jejich životu. Této vlastnosti lze využít pro degradaci chlorovaných fenolů. Je však nevyhnutelnou podmínkou, aby daný organismus produkoval enzym dehalogenasu, který katalyzuje štěpení C-Cl vazeb. Vznikají tak látky, kde chlor je substituován vodíkem nebo hydroxylovou skupinou. Rychlá adaptace mikroorganismů k novému zdroji potravy dovoluje široký výběr kmenů vhodných pro degradaci škodlivin<sup>70</sup>. Dehalogenační enzymy se mohou podle mechanismu účastnit redukční nebo oxidační dehalogenace.

Redukční dehalogenace chlorfenolů jako elektronakceptoru (ArX + e<sup>-</sup> → ArX<sup>-</sup>) probíhá za anaerobních podmínek, kdy tyto látky mohou kompletně degradovat na oxid uhličitý a methan (methanogenní a sulfidogenní kmeny)<sup>71</sup>. Byla zkoumána reaktivita jednotlivých poloh atomu chloru na fenolu<sup>72</sup>. Nejochotněji byla dechlorována poloha *ortho* a ze dvou *ortho* poloh ta, která má vedle sebe atom chloru. Pokud nebyla *ortho* poloha přítomna, byla preferována poloha *meta* před polohou *para*.

Oxidační dehalogenace chlorfenolů jako elektronodonoru (ArX → ArX<sup>+</sup> + e<sup>-</sup>) probíhá za aerobních podmínek<sup>73</sup> a je katalyzována monoxygenasami. Konečnými produkty jsou katecholy či chinony.

### 5. Závěr

V současné době je k dispozici mnoho metod, které z větší či menší části nabízejí řešení daného problému. Ideální metoda, která by byla vysoce účinná, ekonomicky nenáročná, zároveň šetrná k životnímu prostředí a její průběh by byl spolehlivý bez možnosti vzniku nebezpečných meziproductů, neexistuje.

*Tento přehled byl zpracován s podporou grantových projektů GA AV (IAA4072206) a GAČR (203/02/0879).*

#### LITERATURA

1. Jaw C.-G., Chen I.-M., Yen J.-H., Wang Y.-S.: *Chemosphere* 39, 2607 (1999).
2. Dean J. A.: *Lange's Handbook of Chemistry*. McGraw-Hill, New York 1985.
3. Weast R. C., Grasselli J. G.: *Handbook of Data on Organic Compounds* (2. vydání), CRC Press, Boca Raton 1989.
4. Ma K.-C., Shiu W.-Y., Mackay D.: *J. Chem. Eng. Data* 38, 364 (1993).
5. Chantooni Jr. M. K., Kolthoff I. M.: *J. Phys. Chem.* 80, 1306 (1976).
6. Highet R. J., Highet P. F.: *J. Org. Chem.* 30, 902 (1965).



7. Huang G.-L., Xiao H., Chi J., Shiu W.-Y., Mackay D.: *J. Chem. Eng. Data* **45**, 411 (2000).
8. Boyd E. M., Killham K., Meharg A. A.: *Chemosphere* **43**, 157 (2001).
9. Hunter A., Renfrew M., Rettura D., Taylor J. A., Whitmore J. M. J., Williams A.: *J. Am. Chem. Soc.* **117**, 5484 (1995).
10. Könemann H., Musch A.: *Toxicology* **19**, 223 (1981).
11. Boxall A. B. A., Brown C. D., Barrett K. L.: *Pest Manage. Sci.* **58**, 637 (2002).
12. Sangster J.: *LOGKOW Data bank*, Sangster Research Lab, Montreal 1993. <http://logkow.cisti.nrc.ca>, staženo 17. prosince 2003.
13. Hansch C., Leo A.: *Substituent Constants for Correlation Analysis in Chemistry and Biology*. John Wiley & Sons, New York 1979.
14. Devillers J., Chambon P.: *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **37**, 599 (1986).
15. Stoesser W. C. (Dow Chemical): US 2131259; *Chem. Abstr.* **32**, 9102 (1938).
16. Widiger Jr. A. H. (Dow Chemical): US 2756260 (C07C37/62) (1956).
17. Watson W. D.: *J. Org. Chem.* **50**, 2145 (1985).
18. Hirsch A., Rosen I. (Diamond Alkali Co.): US 2812367 (1957).
19. Widiger Jr. A. H., Aaron M. L., Dugan G. F. (Dow Chemical): US 2799713 (C07C37/02) (1957).
20. Green N. J. L., Jones J. L., Johnston A. E., Jones K. C.: *Environ. Sci. Technol.* **35**, 1974 (2001).
21. Hoekstra E. J., De Weerd H., De Leer E. W. B., Brinkman U. A. T.: *Environ. Sci. Technol.* **33**, 2543 (1999).
22. Gribble G. W.: *Chemosphere* **52**, 289 (2003).
23. Berger R. S.: *J. Med. Entomol.* **20**, 103 (1983).
24. Eisner T., Hendry L.B., Peakall D. B., Meinwald J.: *Science* **172**, 277 (1971).
25. Field J. A., Verhagen F. J. M., De Jong E.: *Trends Biotechnol.* **13**, 451 (1995).
26. Hazen S. L., Heinecke J. W.: *J. Clin. Invest.* **99**, 2075 (1997).
27. Latch D. E., Packer J. L., Arnold W. A., McNeill K.: *J. Photochem. Photobiol., A* **158**, 63 (2003).
28. Cooper V. A., Nicell J. A.: *Water Res.* **30**, 954 (1996).
29. Meunier B., Sorokin A.: *Acc. Chem. Res.* **30**, 470 (1997).
30. Schellenberg K., Leuenberger C., Schwarzenbach R. P.: *Environ. Sci. Technol.* **18**, 652 (1984).
31. Danis T. G., Albanis T. A., Petrakis D. E., Pomonis P. J.: *Water Res.* **32**, 295 (1998).
32. Nelson P. O., Yang M.: *Water Environ. Res.* **67**, 892 (1995).
33. Bishop D. J., Knezovich J. P., Harrison F. L.: *Water, Air, Soil Pollut.* **49**, 93 (1990).
34. Lin S. H., Cheng M. J.: *Environ. Technol.* **21**, 475 (2000).
35. Ulrich H.-J., Stone A. T.: *Environ. Sci. Technol.* **23**, 421 (1989).
36. Fitzpatrick M. G.: PCT Int. Appl. WO 03 013749 (B09C1/06; C07C37/76).
37. Lin S. H., Pan C. L., Leu H. G.: *Chem. Eng. J.* **87**, 163 (2002).
38. Narang A. S., Swami K., Narang R. S., Eadon G. A.: *Chemosphere* **22**, 1029 (1991).
39. Lu M. C.: *Chemosphere* **40**, 125 (2000).
40. Benitez F. J., Beltran-Heredia J., Acero J. L., Rubio F. J.: *Chemosphere* **41**, 1271 (2000).
41. Pera-Titus M., García-Molina V., Baños M. A., Giménez J., Esplugas S.: *Appl. Catal., B* **47**, 219 (2004).
42. Bigda R. J.: *Chem. Eng. Prog.* **91**, 62 (1995).
43. Huang H. H., Lu M. C., Chen J. N., Lee C. T.: *Chemosphere* **51**, 935 (2003).
44. Hadasch A., Sorokin A., Rabion A., Meunier B.: *New J. Chem.* **22**, 45 (1998).
45. Song H.-Y., J.-Z. Liu, Y.-H. Xiong, L.-P. Weng, L.-N. Ji: *J. Mol. Catal., B* **22**, 37 (2003).
46. Imamoto T., Takeyama T., Kusumoto T.: *Chem. Lett.* **1985**, 1491.
47. Schwartz J., Yumin L. (Univ. Princeton): PCT Int. Appl. WO 93 21117 (A62D3/00E5; A62D3/00E10).
48. Yang C. M., Pittman C. U.: *Synth. Commun.* **28**, 517 (1998).
49. Tabaei S.-M. H., Pittman C. U.: *Tetrahedron Lett.* **1993**, 3263.
50. Sun G.-R., He J.-B., Pittman C. U.: *Chemosphere* **41**, 907 (2000).
51. Grushin V. V., Alper H.: *Chem. Rev.* **94**, 1047 (1994).
52. Yuan G., Keane M. A.: *Chem. Eng. Sci.* **58**, 257 (2003).
53. Liu Y., Yang F., Yue P. L., Chen G.: *Water Res.* **35**, 1887 (2001).
54. Qin J., Zhang Q., Chuang K. T.: *Appl. Catal., B* **29**, 115 (2001).
55. Ukisu Y., Miyadera T.: *J. Mol. Catal., A* **125**, 135 (1997).
56. Massicot F., Schneider R., Fort Y., Illy-Cherrey S., Tillement O.: *Tetrahedron* **56**, 4765 (2000).
57. Felis V., De Bellefon C., Fouilloux P., Schweich D.: *Appl. Catal., B* **20**, 91 (1999).
58. Morales J., Hutcheson R., Cheng I. F.: *J. Hazard. Mater.* **90**, 97 (2002).
59. Shin E.-J., Keane M. A.: *Appl. Catal., B* **18**, 241 (1998).
60. Brainerd A. E., Poffenberger N. (Dow Chemical): US 2803669 (1957).
61. Teo K. C., Xu Y., Yang C.: *Ultrason. Sonochem.* **8**, 241 (2001).
62. Rodrigo M. A., Michaud P. A., Duo I., Panizza M., Cerisola G., Cominellis C.: *J. Electrochem. Soc.* **148**, D60 (2001).
63. Dabo P., Cyr A., Laplante F., Jean F., Menard H., Lessard J.: *Environ. Sci. Technol.* **34**, 1265 (2000).
64. Taghipour F., Evans G. J.: *Radiat. Phys. Chem.* **49**, 257 (1997).
65. Shi Z., Sigman M. E., Ghost M. M., Dabestani R.: *Environ. Sci. Technol.* **31**, 3581 (1997).
66. Hong J., Kim D.-G., Cheong C., Jung S.-Y., Yoo M.-

- R., Kim K.-J., Kim T.-K., Park Y.-C.: *Anal. Sci.* 16, 621 (2000).
67. Ruppert G., Bauer R., Heisler G.: *Chemosphere* 28, 1447 (1994).
68. Androulaki E., Hiskia A., Dimotikali D., Minero C., Calza P., Pelizzetti E., Papaconstantinou E.: *Environ. Sci. Technol.* 34, 2024 (2000).
69. Ozoemena K., Kuznetsova N., Nyokong T.: *J. Mol. Catal., A* 176, 29 (2001).
70. Fetzner S.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 50, 633 (1998).
71. Becker J. G., Stahl D. A., Rittmann B. E.: *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 5169 (1999).
72. Takeuchi R., Suwa Y., Yamagishi T., Yonezawa Y.: *Chemosphere* 41, 1457 (2000).
73. Langwaldt J. H., Puhakka J. A.: *Water Res.* 37, 1378 (2003).

**L. Vlková and V. Církva** (*Institute of Chemical Process Fundamentals, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*): **Chlorinated Phenols and Methods of Their Degradation**

The aim of the review is to point to some physical, chemical and toxicological properties of chlorophenols and their harmful effect on the environment. A survey of methods of their elimination and degradation by physical, chemical, electrochemical, photochemical and microbial processes is given.

## ČESKO – AMERICKÁ SPOLUPRÁCE

### V RÁMCI MEZIVLÁDNÍ DOHODY O VTS MEZI ČR A USA

Podpora společných česko-amerických projektů vychází z Dohody mezi vládou ČR a vládou USA o vědeckotechnické spolupráci, podepsané v roce 1998.

#### TYPY AKTIVIT

1. Společný výzkumný projekt
2. Vědecké konference, semináře, kurzy a workshopy

Každá strana bude krýt základní výdaje na činnosti probíhající na vlastním území.

Finanční prostředky pro mezinárodní spolupráci slouží pouze k doplnění zdrojů, které již obě strany mají, a jsou určeny pro podporu vzájemné spolupráce.

O finanční podporu se mohou ucházet **všechny české výzkumné instituce**, jak univerzitní a akademické, tak i rezortní a soukromé.

Informace o postupu při předkládání návrhů – [www.amvis.cz](http://www.amvis.cz) .

## CHEMICKÝ PRŮMYSL

### Šestá mezinárodní technická konference asociace Euro Chlor „Zlepšení zdravotních, bezpečnostních a environmentálních aspektů elektrolytické výroby chloru“

Euro Chlor reprezentuje evropský chlor-alkalický průmysl. Sídli v Bruselu a jménem svých členů hraje klíčovou komunikační a reprezentační úlohu. Zároveň vnímá a zohledňuje zájmy a potřeby veřejnosti v oblasti udržitelného rozvoje při výrobě chloru (Kontakt: Euro Chlor, Bronwen Pickering, e-mail: bpi@cefic.be).

Euro Chlor existuje v současné podobě od roku 1989 a jeho posláním je rozvíjet vědecké, advokátní a komunikační kapacity oboru a oslovovat tak všechny zainteresované strany. Euro Chlor sdružuje čtyřicet jedna evropských producentů (v ČR: Spolana a Spolchemie) ve dvaceti zemích.

Evropští producenti chloru sdružení v asociaci Euro Chlor usilují o trvale udržitelný rozvoj s ohledem na životní prostředí a sociální a ekonomické souvislosti. Je to i jeden z důvodů konání 6. mezinárodní technické konference v Praze. Více než tři sta zástupců chemického průmyslu z třiceti pěti zemí světa, včetně představitelů českých producentů, se ve dnech 19. – 22. ledna 2005 sešli, aby se podělili o nejnovější informace a zkušenosti z oblasti výroby chloru týkající se zdraví, bezpečnosti a vlivů na životní prostředí.

Všech 41 členů Euro Chloru – včetně českých producentů chloru – se zavázalo dodržovat Program udržitelného rozvoje, který je součástí dlouhodobé strategie asociace. Cílů programu má být dosaženo do roku 2010, o průběhu jejich naplňování budou vydávány pravidelné zprávy.

Aby produkce chloru a hydroxidu sodného (vedlejší produkt výroby) splňovala zásady trvale udržitelného rozvoje, bude nutné výrobu na bázi amalgámové elektrolýzy nahradit membránovou technologií. Před deseti lety byly více než dvě třetiny evropské produkce chloru vyráběny technologií amalgámové elektrolýzy. Dnes je to méně než polovina. V roce 1999 se producenti chloru dobrovolně zavázali ukončit výrobu chloru amalgámovou elektrolýzou, jakmile doslouží původní zařízení, ovšem ne později než v roce 2020.

Náhrada všech výrobních zařízení využívajících rtuť bude stát více než 3 miliardy EUR, které pro dotčené společnosti představují významnou kapitálovou investici. Pokud mají tyto společnosti zůstat konkurenceschopné nejen na domácích nebo evropských trzích, ale i v celosvětovém měřítku, je nezbytné tento typ výroby utlumovat postupně.

*Petr Machalik, Deputy Director,  
Interel Corporate Communications  
e-mail: PM@interel.cz*

### Udělení titulu „Firma, která dbá o životní prostředí“ v Polsku

V 6. ročníku polské národní ekologické soutěže „Pečující o životní prostředí“, pořádané pod patronátem prezidenta Polské republiky Aleksandra Kwaśniewského zvítězila společnost **Basell Orlen Polyolefins** (BOP). Organizátorem letošní soutěže bylo Centrum pro podporu nevládních iniciativ, Sdružení Evropa – náš domov.

Společnost v roce 2004 zavedla integrovaný systém řízení, jehož významnou část tvoří přísné ekologické normy, je držitelem certifikátu programu „Responsible care“ a garantuje dodržování čistých a bezpečných výrobních procesů, navržených s ohledem na ochranu životního prostředí, technologickou bezpečnost a hygienu práce. Zaměstnanci firmy se aktivně zapojili do celostátní akce „Úklid světa 2004“, což byla polská obdoba kampaně „Clean up the World“ probíhající pod patronátem UNEP (organizace pro ochranu životního prostředí při OSN). Společnost dále sponzorsky podpořila řadu ekologických projektů.

Společnost Basell Orlen Polyolefins je společným podnikem firem Basell Europe Holdings a PKN ORLEN, kde každý z partnerů vlastní 50% podíl. Společnost v současnosti buduje dva nové závody na výrobu polypropylenu a polyethylenu v polském Plocku. Zařízení budou patřit k největším na světě a se zahájením jejich provozu se počítá ve třetím čtvrtletí roku 2005.

Společnost PKN ORLEN je největší středoevropský ropný koncern se sídlem v Polsku. Akciová společnost, v níž má podíl 28 % polský stát, se s tržbami ve výši 7,7 mld EUR za rok 2003 stala vůbec největší firmou v nových členských státech EU. Záměrem PKN ORLEN je hrát významnou roli v regionální konsolidaci ropného průmyslu ve střední Evropě. V roce 2002 provedla akvizici téměř 500 čerpacích stanic v Německu a v Polsku provozuje síť 1900 čerpacích stanic a rafinérií v Plocku, která patří mezi nejmodernější a nejefektivnější zařízení svého druhu v Evropě. Kapitálová skupina ORLEN zahrnuje zhruba 80 dceřiných a přidružených společností a celkem zaměstnává přes 14 tisíc pracovníků. Tržní kapitalizace firmy překračuje 11 mld zlotých, tj. cca 3 mld USD.

Společnost PKN Orlen v loňském roce zvítězila ve výběrovém řízení na koupi petrochemického holdingu Unipetrol.

Zdroj: Tisková zpráva společnosti PKN Orlen

---

## LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

---

### KOMBINOVANÝ DETEKTOR PRO KAPILÁRNÍ ELEKTROFORÉZU

MARTIN NOVOTNÝ, FRANTIŠEK OPEKAR  
a IVAN JELÍNEK

*UNESCO laboratoř elektrochemie životního prostředí,  
katedra analytické chemie, Universita Karlova v Praze,  
Albertov 2030, 128 40 Praha 2  
opekar@natur.cuni.cz*

Došlo 21.10.03, přijato 3.3.04.

---

**Klíčová slova:** kapilární elektroforéza, bezkontaktní vodivostní detektor, spektrofotometrický detektor, kombinovaný detektor

---

#### Úvod

Při analýzách vzorků obsahujících směs malých anorganických iontů a iontů organických látek metodou kapilární zónové elektroforézy (CZE) vzniká problém, jak současně detegovat oba typy těchto látek. Standardní detekční metoda, spektrofotometrie v UV oblasti, je vhodná pro detekci organických látek, anorganické ionty lze touto metodou detegovat pouze nepřímo. Pro detekci anorganických iontů jsou vhodné detektory založené na měření elektrické vodivosti roztoku. Je tedy zřejmé, že jeden typ detektoru zpravidla neumožní detegovat oba typy analytů současně, takže analýzu je nutno provádět opakovaně. Problém lze do určité míry řešit kombinací obou detektorů, obecně kombinací detektorů založených na různých principech.

V literatuře se lze setkat s několika typy kombinovaných detektorů využívaných pro detekci v zónové elektroforéze, ať již kapilární či čipové. Např. ampérometrický detektor byl kombinován s fluorescenčním<sup>1</sup>, spektrofotometrickým<sup>2</sup> či bezkontaktním vodivostním detektorem<sup>3</sup>. Nepřímá UV detekce byla použita v kombinaci s přímou vodivostní<sup>4,5</sup> či hmotnostní detekcí<sup>6</sup>, detektor s diodovým polem kombinovaný s hmotnostním detektorem je popsán v práci<sup>7</sup>. Společným nedostatkem těchto detektorů je zapojení jednotlivých detekčních systémů v sérii, takže záznamy obou detektorů jsou časově posunuty a zachycují zóny separovaných látek v různém stadiu separace. Uspořádání detektoru, který umožňuje spektrofotometrickou a bezkontaktní vodivostní detekci v jednom místě separační kapiláry bylo publikováno v práci<sup>8</sup>. Z praktického hlediska však konstrukční uspořádání publikovaného kombinovaného detektoru není příliš vhodné. Tubulární vodi-

vostní elektrody jsou integrální součástí separační kapiláry a přívod i odvod záření je zprostředkován světlovodnými vlákny přitisknutými v poloze proti sobě kolmo ke kapiláře. Kapilára proto nemůže být při poškození vyměněna, ale musí být sestaven detektor nový, tj. je nutno na nové kapiláře vytvořit vodivostní elektrody a časově náročným postupem adjustovat světlovodná vlákna. Je zřejmé, že takto není možno zajistit reprodukovatelné geometrické uspořádání ani vodivostní, ani optické části detektoru.

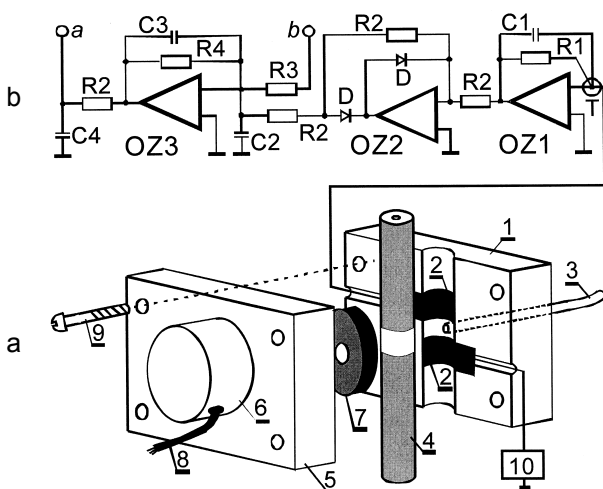
V této práci je popsáno konstrukční uspořádání kombinovaného spektrofotometrického a bezkontaktního vodivostního detektoru, které umožňuje detekci látek v jednom místě kapiláry a je použitelné pro rutinní analýzu, tj. umožňuje vkládání a výměnu separační kapiláry způsobem obvyklým u běžných spektrofotometrických detektorů. Pro vodivostní část detektoru bylo využito uspořádání s poloválcovými elektrodami<sup>9</sup>, do něž byla zaintegrovaná část optická tvořená pouze jedním světlovodným vláknem přivádějícím ke kapiláře záření ze zdroje. Vláknem je pevně fixováno mezi vodivostními elektrodami, takže při výměně kapiláry zůstává v konstantní poloze. Záření prošlé kapilárou je, podobně jako ve standardních spektrofotometrických detektorech používaných v kapilárních separačních metodách, přímo snímáno fotodiodou umístěnou v blízkosti kapiláry.

#### Experimentální část

##### Mechanické uspořádání detektoru

Celkové mechanické uspořádání detektoru je znázorněné na obr. 1a. Vodivostní část detektoru je zcela obdobná bezkontaktnímu vodivostnímu detektoru popsanému v práci<sup>9</sup>. V plexisklové destičce (1) o rozměrech 45×65 mm a tloušťce 10 mm je vytvořena poloválcová drážka o průměru rovném přibližně vnějšímu průměru separační kapiláry, zde asi 400 μm. V drážce jsou vlepeny dvě elektrody (2) z hliníkové fólie o tloušťce 10 μm, šířce 3 mm a vzdálené od sebe 2 mm. Tato plexisklová destička je nepohyblivá, je připevněna k desce s plošným spojem, na níž je zapojen elektronický obvod vodivostního detektoru. Na jednu z elektrod je přiváděn střídavý signál z funkčního generátoru (10), druhá je spojena s elektronikou vodivostní části detektoru.

Pro optickou část detektoru byl využit komerční spektrofotometrický detektor LCD 2082 (Ecom, ČR) upravený tak, aby záření od zdroje mohlo být vedeno ke kapiláře světlovodným vláknem. Jeden konec světlovodu o průměru 100 μm a délce asi 25 cm byl vlepen epoxidovým lepidlem do injekční jehly vhodného průměru, zkrácené na délku 10 mm. Ta byla spolu se světlovodem uchycena šroubem M2 v otvoru hliníkového válečku tvořícího redukci pro spojení s blokem deuteriové výbojky uvnitř spektrofotometrického detektoru fy Ecom. Druhý konec



Obr. 1. a – Schéma mechanického uspořádání kombinovaného detektoru (jednotlivé komponenty nejsou pro přehlednost zakresleny v měřítku): 1 – pevná plexisklová destička, 2 – elektrody, 3 – světlovedné vlákno přivádějící záření ze spektrofotometru, 4 – separační kapilára, 5 – pohyblivá plexisklová destička, 6 – fotodioda, 7 – optické stínění, 8 – kabel spojující fotodiodu s elektronikou ve spektrofotometrickém detektoru, 9 – spojovací šroub, 10 – funkční generátor. b – elektronické zapojení vodivostní části detektoru: OZ1, OZ2 – Burr Brown OPA606KP, OZ3 – Analog Devices OP177, R1 – 1 M $\Omega$ , R2 – 10 k $\Omega$ , R3 – 100 k $\Omega$ , R4 – 300 k $\Omega$ , C1 – 1 pF, C2, C4 – 1  $\mu$ F, C3 – 0,1  $\mu$ F, D – křemíková dioda 1N4448, T – teflonem izolovaný pájecí bod

světlovedné vlákno (3) prochází nepohyblivou plexisklovou destičkou (1) do mezery mezi vodivostními elektrodami tak, aby se jeho čelo právě dotýkalo vložené separační kapiláry. V optimální poloze může být vlákno fixováno ztmelením nebo pružným těsněním stlačovaným šroubem. Separací kapilára (4) s vytvořeným průhledným okénkem je přitlačována k elektrodám a světlovednému vláknu pohyblivou plexisklovou destičkou (5). V destičce je otvor o průměru 2 mm jímž záření prošle kapilárou dopadá na velkoplošnou fotodiodu (6). Fotodioda, použitá z komerčního detektoru bez úprav, je s destičkou (5) pevně spojená. Mezi oběma destičkami je optické stínění z černé polyurethanové pěny (7) přilepené k destičce (5). Destičky jsou k sobě přitlačovány čtyřmi šrouby (9). Signál z fotodiody je veden kabelem (8) do komerčního detektoru, kde je zpracováván.

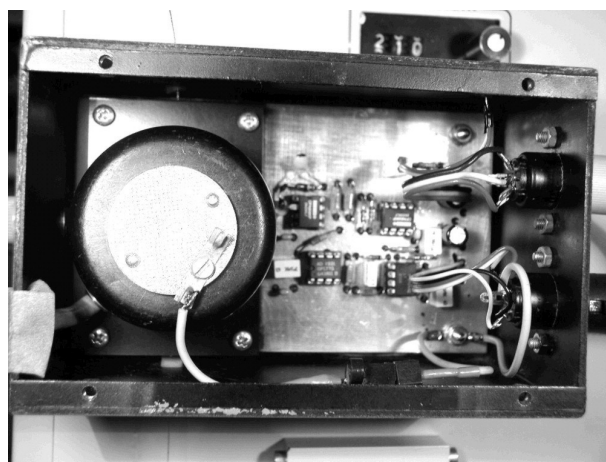
#### Elektronické zapojení vodivostní části detektoru

Schéma elektronického zapojení pro bezkontaktní vodivostní detekci (obr. 1b) bylo upraveno dle práce<sup>10</sup>. Je v něm využito standardních obvodů s operačními zesilovači. Střídavý signál sinusového průběhu z funkčního generátoru (FG 2002C, Goldstar, Korea) je přiváděn na jednu z poloválcových vodivostních elektrod, prochází kapilárou a je snímán druhou vodivostní elektrodou. Je zesilován proudovým sledovačem (OZ1), jednoduše usměrněn

(OZ2) a dále zesilen invertujícím zesilovačem (OZ3). Pomocné napětí (–10 až +10 V) přivedené do bodu b ve vstupu OZ3 umožňuje kompenzovat signál pozadí. Z výstupu OZ3 je signál veden k registračnímu zařízení. Obvod byl zapojen na desce s plošným spojem. Kritickým bodem obvodu je vstup OZ1 – přírodní vodič od vodivostní elektrody musí být co nejkratší a vstup OZ1 byl pájen na pájecí bod izolovaný od desky s plošným spojem teflonem. K registraci signálu byl využit počítač vybavený univerzální měřicí deskou PCI-6024E a programem Lab-View (National Instruments, USA). Nemá-li registrační zařízení dostatečně vysoký vstupní odpor, je nutno registračnímu zařízení předřadit impedanční převodník (napěťový sledovač); je-li ve výstupním filtru R2C4 v obr. 1b hodnota R2 = 10 k $\Omega$ , pak by registrační zařízení mělo mít vstupní odpor alespoň 10<sup>7</sup>  $\Omega$ .

#### Celková sestava detektoru

Detektor sestavený na desce s plošným spojem s elektronikou vodivostního detektoru je umístěn v kovové krabici o rozměrech 130 × 80 × 70 mm zajišťující jeho elektrické i optické odstínění od vnějšího prostředí. Vnitřní stěny krabice i obě plexisklové destičky jsou začerněny matným lakem. Celá sestava uvnitř stínící krabice je vidět na obr. 2. Krabice je připevněna k čelnímu panelu spektrofotometrického detektoru LCD 2082 (Ecom, ČR), (viz obr. 3). Vkládání kapiláry do detektoru je obdobné jako při použití standardních spektrofotometrických detektorů: odstraní se kryt stínící krabice, pohyblivá plexisklová destička se po uvolnění přitlačovacích šroubů oddálí od destičky nepohyblivé, otvory v horní a spodní stěně stínící krabice se vsune kapilára, vloží se do drážky tak, aby optické okénko bylo v místě, kde je mezi vodivostními elektrodami světlovedné vlákno a její poloha se zafixuje přitisknutím pohyblivé destičky a utažením přitlačovacích šroubů.



Obr. 2. Pohled na sestavu detektoru uvnitř ochranné stínící krabice; detekční část je vlevo, je zakrytá pouzdem s velkoplošnou diodou z detektoru LCD 2082 (Ecom, ČR). Vpravo je elektronický obvod vodivostní části detektoru a konektory pro přívod napájecího napětí a spojení elektronického obvodu s počítačem



Obr. 3. Umístění kombinovaného detektoru na čelním panelu UV detektoru LCD 2082 (Ecom, ČR); separační kapilára vstupuje do detektoru shora, pod detektorem je koncová elektroforetická nádobka. Na levé straně detektoru jsou konektory BNC pro přívod střídavého napětí z funkčního generátoru k vodivostní části a kabel spojující velkoplošnou diodu s elektronikou UV detektoru. Konektory vpravo – viz obr. 2

#### Elektroforetická testovací aparatura

Aparatura pro elektroforetická měření byla sestavena v laboratoři z vysokonapěťového zdroje Spellman CZE 1000 (Spellman, USA), křemenné, polyimidem pokryté kapiláry o vnitřním průměru 75  $\mu\text{m}$  a vnějším průměru 375  $\mu\text{m}$  (Silica Tubing & Optical Fibers, Slovensko) a převodníku umožňujícího ovládnutí vysokonapěťového zdroje a sběr a zobrazení signálů z obou částí detektoru programem LabView (National Instruments, USA). Vzorek byl dávkován hydrodynamicky zvednutím dávkovacího konce kapiláry o 10 cm proti hladině v koncové nádobce na dobu 10 s. Použité roztoky nosného elektrolytu a testovacích roztoků byly připraveny z chemikálií pro analýzu v deionizované vodě. Všechna měření byla prováděna za laboratorní teploty. Další podrobnosti experimentálních podmínek jsou uvedeny v tabulce I.

Tabulka I  
Experimentální podmínky pro elektroforetická měření

| Parametr                               | Hodnota   |
|--|---|
| Délka kapiláry celková/<br>k detektoru | 69 cm/60 cm   |
| Separáčnı napětı/proud                 | 20 kV/13-14 mA  |
| Separáčnı pufr                         | H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> (20 mM), LiOH (10 mM),<br>pH 9,22  |
| Parametry detekce                      | Spektrofotometrická část: vlnová<br>délka 210 nm<br>Vodivostnı část: napětı sinusové-<br>ho průběhu, frekvence 200 kHz,<br>amplituda $\pm 10$ V |

## Výsledky a diskuse

### Vlastnosti spektrofotometrické části detektoru

Základní analytické parametry spektrofotometrické části detektoru byly určovány pro roztoky kyseliny salicylové v koncentračním oboru  $5 \cdot 10^{-5}$  až  $10^{-2}$  mol.dm<sup>-3</sup> a byly porovnávány s parametry získanými za stejných experimentálních podmínek při použití komerčního spektrofotometrického detektoru Unicam 4225 (Unicam, Anglie).

Lineární dynamický rozsah testovaného detektoru byl  $5 \cdot 10^{-5}$  až  $5 \cdot 10^{-3}$  mol.dm<sup>-3</sup>. Kalibrační závislost plochy píku,  $P$  [mAU.s], na koncentraci kyseliny salicylové,  $c$  [mol.dm<sup>-3</sup>], určená ze 6 koncentrací z tohoto rozsahu lze popsat rovnicí

$$P = -0,13 (1,33) + 2,10 \cdot 10^5 (4,50 \cdot 10^3) c$$

(v závorce je standardní odchylka) se standardní chybou  $s_{x,y} = 1,56$  mAU.s a korelačním koeficientem 0,999. Limit detekce, určený ze vztahu  $3s_{x,y}$ /směrnice kalibrační závislosti, byl  $2 \cdot 10^{-5}$  mol.dm<sup>-3</sup>. Limit detekce vyjádřený v absolutním množství dávkované salicylové kyseliny byl 33 pg.

Ve srovnání s výsledky získanými při použití komerčního detektoru byla citlivost testovaného detektoru (porovnávány byly směrnice koncentrační závislosti) třikrát vyšší, ale čtyřikrát vyšší byl limit detekce. Příčinou vyšší hodnoty limitu detekce je zřejmě ne zcela robustní laboratorní konstrukce optické části detektoru projevující se určitou nestabilitou signálu (ovlivnění hodnoty  $s_{x,y}$ ) a pravděpodobně i opticky neoptimalizovaný kontakt světlovodného vlákna s kapilárou. Rozptyl nefokusovaného záření má nepochybně vliv i na šířku registrovaných píků, což se projevilo na hodnotě výškového ekvivalentu teoretického patra  $H$ . Podíl hodnot  $H$  zjištěných z parametrů píků registrovaných optickou částí testovaného detektoru a spektrofotometrickým detektorem Unicam byl 1,38, tj. hodnota  $H$  je v případě testovaného detektoru téměř o 40 % vyšší než u komerčního detektoru. Šum základní linie nepřevyšoval hodnotu 0,1 mAU.

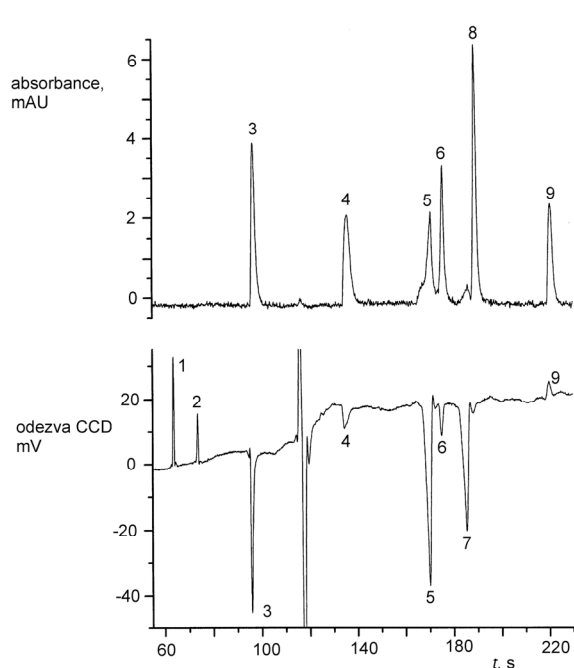
### Vlastnosti vodivostní části detektoru

Základní parametry vodivostní části detektoru byly určovány pro roztoky chloridu draselného v koncentračním oboru  $1 \cdot 10^{-7}$  až  $10^{-3}$  mol.dm<sup>-3</sup>. Lineární dynamický rozsah byl  $1 \cdot 10^{-5}$  až  $10^{-3}$  mol.dm<sup>-3</sup>. Kalibrační závislost plochy píku,  $P$  [mV.s], na koncentraci KCl,  $c$  [mol.dm<sup>-3</sup>], určenou ze 6 koncentrací z tohoto rozsahu lze popsat rovnicí

$$P = 3,60 (1,40) + 1,05 \cdot 10^5 (2,80 \cdot 10^3) c$$

(v závorce je standardní odchylka) se standardní chybou  $s_{x,y} = 2,30$  mV.s a korelačním koeficientem 0,999. Limit detekce byl  $1 \cdot 10^{-7}$  mol.dm<sup>-3</sup>. Limit detekce vyjádřený v absolutním množství dávkovaného KCl byl 0,08 pg. Tyto parametry jsou srovnatelné s publikovanými parametry bezkontaktních vodivostních detektorů nejrůznějších konstrukcí<sup>9,11</sup>.

Podíl hodnot  $H$  zjištěných z parametrů píků registro-



Obr. 4. **Elektroforeogram modelové směsi**; experimentální podmínky jsou v tabulce I, separační pufr SP2. Identifikace píků: 1 –  $K^+$  (1,4), 2 –  $Na^+$  (1,4), 3 – tyramin (0,3), 4 – histidin (0,2), 5 – askorbová kyselina (1,0), 6 – sorbová kyselina (0,3), 7 – máselná kyselina (1,8), 8 – salicylová kyselina (0,07), 9 – gallová kyselina (0,02) (v závorce jsou koncentrace v  $mmol.dm^{-3}$ ), CCD – bezkontaktní vodivostní detektor

vaných vodivostní částí testovaného detektoru a spektrofotometrickým detektorem Unicam byl 0,91. Z toho vyplývá, že vodivostní část detektoru nepřispívá k dodatečnému rozšiřování píků. Šum základní linie nepřevyšoval hodnotu 0,25 mV, drift (viz obr. 4) nebránil vyhodnocování elektroforeogramu.

#### Využití detektoru

Na obr. 4 je elektroforeogram modelové směsi látek ilustrující využití kombinovaného detektoru. Z jednoho záznamu je možno stanovit jak látky absorbující UV záření, tak látky detegovatelné pouze vodivostním detektorem. Některé látky poskytují odezvu obou částí detektoru, což může přispět k identifikaci látek v analyzované směsi. Další příklady elektroforeogramů modelových směsí i praktické analýzy jsou uvedeny v práci<sup>8</sup>.

#### Závěr

V práci je ukázáno, že i v laboratoři lze sestavit kombinovaný vodivostní a spektrofotometrický detektor použitelný pro rutinní analýzu, tj. umožňující vkládání a výměnu separační kapiláry způsobem obvyklým u běžných

spektrofotometrických detektorů. Parametry obou částí detektoru jsou vyhovující pro běžné aplikace. Dá se očekávat, že použitím profesionálních technologií lze dosáhnout lepších pracovních charakteristik detektoru než při laboratorním zhotovování jeho jednotlivých komponent. Jde především o zavedení fokuse optického paprsku do středu kapiláry a lepší fixaci optického vlákna v definované poloze.

Pracovní parametry vodivostní části detektoru (především frekvenci vstupního napětí) je třeba optimalizovat k dosažení nejvyšší citlivosti, či lépe, nejlepšího poměru signál/šum. Dle teorie podané v práci<sup>12</sup> signál kapacitně vázaného bezkontaktního vodivostního detektoru monotónně roste s růstem frekvence, avšak experimentálně zjištěné frekvenční závislosti publikované v literatuře jsou velice rozdílné, viz<sup>11</sup> a citace tam uvedené. Odezva je evidentně komplexní funkcí řady parametrů souvisejících nejen s geometrií detekční cely, ale i se složením roztoku a vlastnostmi prvků elektronické části detektoru. Pro konkrétní testovanou konfiguraci detektoru je proto nutno určit optimální pracovní frekvenci experimentálně.

*Práce byla finančně podporována Grantovou agenturou ČR, grant 203/01/0653 a částečně Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy ČR, výzkumný záměr JI 3/98:113100002.*

#### LITERATURA

- Lapos J. A., Manica D. P., Ewing A. G.: *Anal. Chem.* 74, 3348 (2002).
- Huang X. J., You T. Y., Yang X. R., Wang E. K.: *Talanta* 49, 425 (1999).
- Wang J., Pumera M.: *Anal. Chem.* 74, 5919 (2002).
- Klampfl C. W., Katzmayer M. U., Buchberger W.: *Electrophoresis* 19, 2459 (1998).
- Klampfl C. W., Katzmayer M. U.: *J. Chromatogr., A* 822, 117 (1998).
- Bondarenko P. V., Wolf B., Cai H., Vincent J. B., Macfarlane R. D., Vigh G.: *Anal. Chem.* 70, 3042 (1998).
- Heitmeier S., Blaschke G.: *J. Chromatogr., B* 721, 93 (1999).
- Chvojka T., Jelínek I., Opekar F., Štulík K.: *Anal. Chim. Acta* 433, 13 (2001).
- Tůma P., Opekar F., Jelínek I.: *Electroanalysis* 13, 989 (2001).
- da Silva J. A. F., do Lago C. L.: *Anal. Chem.* 70, 4339 (1998).
- Zemann A. J.: *Electrophoresis* 24, 2125 (2003).
- Gaš B., Zuzka J., Coufal P., van de Goor T.: *Electrophoresis* 23, 3520 (2002).

**M. Novotný, F. Opekar, and I. Jelínek** (*UNESCO Laboratory of Environmental Electrochemistry, Department of Analytical Chemistry, Charles University, Prague*): **Combined Detector for Capillary Electrophoresis**

A new design of a combined UV-spectrophotometric and contactless conductivity detector is described. The conductometric part consists of two semicylindrical electrodes onto which the separation capillary is pressed. A

single optical fiber fixed in the gap between the electrodes brings light to the capillary with a transparent window. A photodiode fixed close to the optical window records the light passed through the capillary. This arrangement permits simultaneous conductometric and spectrophotometric detection at the same place of the capillary and easy exchange of the capillary without an effect on the geometry of both parts of the detector.

## ADVANCE LEATHER TECHNOLOGY TRAINING COURSE

Supported by Ministry of Commerce of the People's Republic of China, **China Leather & Footwear Industry Research Institute (CLFI)** is planning to sponsor a three weeks *training course of advance leather technology* in October 2005 in Beijing, China.

The focus of the training course is from the leather technicians, managers and related government officers.

The training course will be designed within the following aspects:

1. Tanning technology for cowhide garment leather and upper leather, sheepskins garment leather, goatskin upper leather, as well as the leather made from special skins such as fish skin, snake skin, crocodile skin and ostrich skin etc.... And the tanning technology of eco-leather products.
2. Cleaning production technology based on eliminating sulfide and Cr<sup>6+</sup>.
3. The treatment technology for tannery effluents.
4. Reutilization of tannery waste including of abstracting protein, collagen fiber spinning etc...
5. Relative standards and testing methods.

In order to get approved by Ministry of Commerce of the People's Republic of China, now we need your requirement or opinion of training course.

If you are interested in some of the training courses, please send us your requirements promptly, the requirements should includes:

***Brief introduce of your enterprise, company or government branch.***

***The training courses that you are interested in.***

***Your sign or seal of your enterprise, company or government branch.***

Sincerely yours

CHINA LEATHER & FOOTWEAR  
INDUSTRY RESEARCH INSTITUTE  
CLFI Fax: 0086-10-64337830

Přihlášky můžete poslat faxem na výše uvedené číslo, v každém případě mailem na adresu: doc. Ing. Jan Tříška, CSc, triska@uek.cas.cz, RNDr. Naděžda Vrchotová, CSc., nada@uek.cas.cz, Ústav ekologie krajiny AV ČR, České Budějovice



## MOŽNOSTI VYUŽITÍ MIKROKATALYTICKÝCH PULZNÍCH REAKTORŮ K TESTOVÁNÍ KATALYZÁTORŮ

PETR ZÁMOSTNÝ, ZDENĚK BĚLOHLAV  
a PETR CHLÁDEK

Ústav organické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6  
petr.zamostny@vscht.cz

Došlo 12.12.03, přepracováno 16.6.04, přijato 24.6.04.

Klíčová slova: pulzní reaktor, dehydrogenace, kinetika, matematické modelování

### Obsah

1. Úvod
2. Využití aparatury pyrolýzní plynové chromatografie jako pulzního katalytického reaktoru
  - 2.1. Součásti aparatury
  - 2.2. Analytické metody
  - 2.3. Dávkování vzorku
3. Model homogenního pulzu unášeného nosným plynem v režimu pístového toku
  - 3.1. Uzanční postupy hodnocení aktivity katalyzátoru
  - 3.2. Uzanční postupy hodnocení selektivity katalyzátoru
  - 3.3. Vyhodnocení rychlostní rovnice reakce z údajů naměřených v pulzním reaktoru
  - 3.4. Test obecné platnosti výsledku
4. Příklad aplikace
5. Závěr

### 1. Úvod

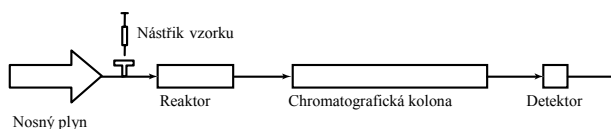
Jednou z technik použitelných k studiu heterogenních katalytických reakcí je technika označovaná jako pulzní. Katalytický pulzní reaktor je průtočný trubkový katalytický reaktor, ve kterém je uložena vrstva katalyzátoru. Reaktor je uložen v termostatu, který zajišťuje řízení teploty v reaktoru. Reaktorem protéká proud nosného plynu, do kterého je vstříknut „pulz“ reagujících látek. Látky ve styku s katalyzátorem reagují, produkty jsou unášeny nosným plynem a vstupují do analytického čidla, v němž je vyhodnoceno složení výstupní směsi. Velmi často je analyzován celý pulz. Koncepce pulzních katalytických reaktorů byla publikována již v 50. letech minulého století<sup>1</sup>, ale v širší míře byly tyto reaktory využívány až v době, kdy byly dostupné analytické přístroje, zejména plynové chromatografy a plynové chromatografy spojené s hmotnostním spektrometrem, které umožňují analyzovat složení pulzu

na výstupu z reaktoru v režimu on-line. Měření je pak velmi produktivní. Pulzní katalytické reaktory jsou někdy označovány názvem mikrokatalytické pulzní reaktory, což odráží skutečnost, že k měření postačuje jen velmi malé množství surovin, v porovnání s jinými typy laboratorních reaktorů. Schéma pulzního reaktoru je uvedeno v obr. 1. Ve vylepšených variantách pulzních reaktorů jsou k analýze reakční směsi využívány multidimenzionální analytické metody a pokročilé analytické způsoby detekce plyných složek, např. metoda FTIR v režimu on-line. Pulzní reaktor s pevným ložem katalyzátoru může sloužit zároveň jako chromatografická kolona. Takové uspořádání se nazývá plynový chromatografický pulzní reaktor<sup>2</sup>.

Systémy, v nichž je reaktor oddělen od chromatografické kolony se označují názvem mikrokatalytický pulzní reaktor. Mezi hlavní výhody pulzních reaktorů patří snadná obsluha, krátká doba stanovení a velmi malá spotřeba katalyzátoru i reagujících látek. Reaktory tedy umožňují provést velký počet měření v krátkém čase s malou spotřebou reagujících látek.

Mikrokatalytické pulzní reaktory se s úspěchem používají k testování katalyzátorů. Jejich hlavní aplikace (viz tab. I) zahrnuje rychlé vyhodnocení selektivity a aktivity katalyzátorů na základě konverze a zastoupení jednotlivých složek ve směsi. V teoretickém výzkumu umožňují rychlý a předběžný odhad chemismu reakce. Výpočtem detailní bilance hmotnosti pro každou složku v nástřiku lze sledovat závislost složení produktu na zanášení povrchu katalyzátoru. Z podrobného matematického modelu, který zahrnuje vliv přenosových jevů na kinetiku a diferenciální hmotnostní bilanci, lze určit kinetické parametry sledované reakce.

Charakteristickým rysem použití mikropulzní techniky je velmi krátká doba kontaktu vzorku a katalyzátoru a zanedbatelná deaktivace katalyzátoru. Vzorek je dopravován do reaktoru podobnými nosnými plyny, které potom unáší vzniklou reakční směs do plynového chromatografu. Průtokem nosného plynu je současně měněno zatížení katalyzátoru. Toho lze dosáhnout dvěma způsoby: změnou navážky katalyzátoru nebo změnou průtoku nosného plynu. Měnit navážku katalyzátoru pro každý experiment je však podstatně složitější než měnit průtok nosného plynu. Ve většině publikovaných prací se používá jako nástřik kapalný vzorek, který se nastříkuje do proudu nosného plynu. Množství vzorku se pohybuje od 0,1 ml až do 5 ml. Vlastní mikroreaktor bývá vyroben ze dvou typů materiálů: skla či křemene a kovových slitin. Jeho vnitřní průměr nebývá větší než 10 mm, což souvisí s přestupem tepla přes stěnu reaktoru a teplotním profilem v loži katalyzáto-



Obr. 1. Schematické znázornění mikrokatalytického pulzního reaktoru

Tabulka I

Přehled použití mikropulzních katalytických reaktorů pro studium katalyzovaných reakcí

| Typ reaktoru             | Studovaná reakce                                | Studovaný jev                                     | Forma nástřiku   | Lit. |
|--------------------------|---|---|--|------|
| Křemen, $d = 8$ mm       | syntéza amoniaku a methanolu                    | aktivita katalyzátoru                             | plynný, dávkovací smyčka                                   | 3    |
| Křemen, $d = 8$ mm       | zplyňování uhlí                                 | aktivita katalyzátoru                             | –  | 3    |
| Křemen, $d = 8$ mm       | hydratace ethylenu                              | aktivita katalyzátoru                             | plynný, dávkovací smyčka                                   | 3    |
| Křemen, $d = 4$ mm       | hydrokonverze n-dodekanu                        | charakterizace katalyzátoru                       | kapalný, 0,5–5 $\mu$ l                                     | 6    |
| Nerez ocel, $d = 4$ mm   | reformace n-heptanu                             | vliv nosného plynu na průběh reakce               | kapalný, 1 $\mu$ l   | 7    |
| Nerez ocel, $d = 4$ mm   | dehydrogenace a hydrogenolýza methylcyklohexanu | vliv nosného plynu na průběh reakce               | kapalný, 1 $\mu$ l   | 8    |
| Nerez ocel, $d = 4$ mm   | aromatizace a hydrogenolýza 3-methylhexanu      | vliv nosného plynu na průběh reakce               | kapalný, 1 $\mu$ l   | 8    |
| Nerez ocel, $d = 4$ mm   | aromatizace hept-2-enu                          | vliv nosného plynu na průběh reakce               | kapalný, 1 $\mu$ l   | 9    |
| Nerez ocel, $d = 6,4$ mm | izomerizace ethylbenzenu                        | výtěžek a kinetika reakce                         | kapalný, 0,1–2 $\mu$ l                                     | 10   |
| Křemen, $d > 0,8$ mm     | různé štěpné reakce                             | testování mikropulzní aparatury                   | kapalný, 1 $\mu$ l   | 11   |
| Nerez ocel, $d = 6,4$ mm | dehydrocyklizace n-oktanu                       | srovnání aktivity a selektivity dvou katalyzátorů | kapalný, 0,1–2 $\mu$ l                                     | 12   |
| Iconel 600               | katalytický krak n-hexadekanu                   | kinetika reakce                                   | odpařený v dávkovací smyčce                                | 13   |
| Sklo, $d = 2,4$ mm       | izomerizace a štěpení n-hexanu                  | kinetika reakce                                   | kapalný, 0,3 $\mu$ l                                       | 14   |
| Nerez ocel, $d = 6,1$ mm | dehydrogenace cyklohexanu                       | kinetika a mechanismus reakce                     | kapalný  | 15   |
| Nerez ocel, $d = 6,1$ mm | hydrogenace benzenu                             | kinetika a mechanismus reakce                     | kapalný  | 15   |
| Nerez ocel, $d = 6,1$ mm | hydrogenace / dehydrogenace cyklohexenu         | kinetika a mechanismus reakce                     | kapalný  | 15   |
| Sklo Pyrex, $d = 4$ mm   | hydrogenace benzenu                             | kinetika reakce                                   | plynný (kalibrace dávkovací smyčka), kapalný, 1–10 $\mu$ l | 16   |

ru. Nejčastěji bývá reaktor zahříván elektrickou pákou. Teplota katalyzátoru se zjišťuje termočlánkem zavedeným přímo do lože katalyzátoru nebo připevněným zvenčí ke stěně reaktoru.

V naprosté většině prací se autoři zabývali eliminačními či štěpnými reakcemi jednoho reaktantu, a mohli tedy použít kapalný nástřik. Právě pro studium takového typu reakcí, které jsou zpravidla velmi rychlé a nevyžadují práci za zvýšeného tlaku, jsou pulzní reaktory ideální. Pulzní reaktory nejsou principiálně vhodné pro reakce, které vyžadují výrazně zvýšený tlak nebo dlouhou dobu zdržení. Výjimečně se objevují práce<sup>3</sup> studující adiční reakce, ve kterých musel být vzorek zplyněn a promíchán a poté dávkován s použitím dávkovací smyčky.

Cílem této práce je popsat konstrukci pulzního katalytického reaktoru s využitím komerčně dostupných aparatur, dále pak osvětlit použití reaktoru k rychlému testování katalyzátorů a reakčních směsí. Závěrem je diskutována spolehlivost vyhodnocení rychlostní rovnice reakce z pulzních měření. Použití pulzního reaktoru je ilustrováno na příkladu dehydrogenace cyklohexanu.

## 2. Využití aparatury pyrolýzní plynové chromatografie jako pulzního katalytického reaktoru

### 2.1. Součásti aparatury

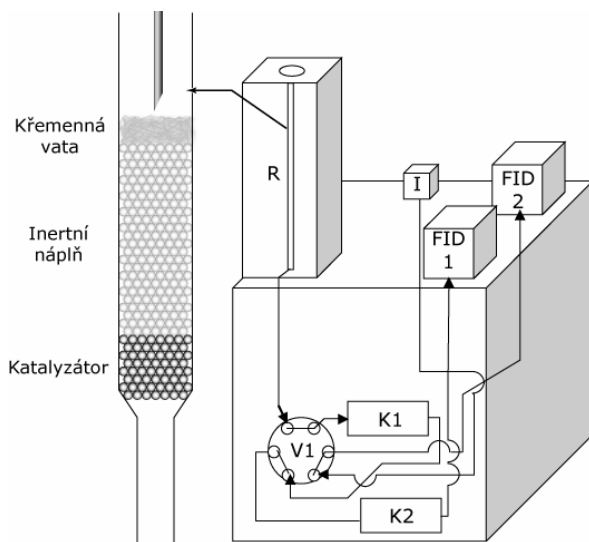
Na výzkum možností využití mikropulzní techniky ke studiu heterogenně katalyzovaných reakcí byla adaptována komerční aparatura pro pyrolýzní chromatografii (Pyr-GC), schematicky znázorněná na obr. 2. Reaktorová část je tvořena pyrolýzním nástavcem Shimadzu PYR-4A a je on-line propojená s analytickou částí založenou na plynovém chromatografu Shimadzu GC-17A.

V pyrolýzním nástavci je umístěn mikropulzní reaktor tvořený zúženou křemennou trubicí, dlouhou 195 mm a vnitřními průměry 3 a 1 mm, která je uložena v elektrické pínce umožňující regulovaný ohřev reaktoru na požadovanou teplotu stěny reaktoru. Uložení katalyzátoru je zřejmé z detailu na obr. 2. Ve zúžení byla umístěna ucpávka

z křemenné vaty a na ní byla nasypána vrstva katalyzátoru, překryta vrstvou inertního materiálu – karbidu křemíku. Inertní vrstva je určena k zajištění rychlého odpaření a ohřátí vzorku a uniformní distribuce toku. Nad inertní vrstvou byla umístěna další ucpávka z křemenné vaty. Průtok nosného plynu byl měřen hmotnostním průtokoměrem. Protože konstrukce přístroje umožňuje nastavení regulované hodnoty teploty pouze na vnější stěně reaktoru, byla přesným měřením získána kalibrační závislost teploty v katalytickém loži v závislosti na teplotě stěny reaktoru a průtoku nosného plynu.

## 2.2. Analytické metody

V termostatu plynového chromatografu tvořícího analytickou část aparatury byly umístěny dvě kapilární kolony – ochranná a analytická. Jako analytická kolona byla použita 60 m kolona DB-1 s 1  $\mu\text{m}$  filmem o vnitřním průměru 0,32 mm. Analytické koloně byla předřazena ochranná kolona o vnitřním průměru 0,53 mm a délce 10 m připojená přes šesticečný přepínací kohout (viz obr. 2). Funkce ochranné kolony byla založená na režimu analýzy se zpětným výplachem, kdy po uplynutí nastavené doby od počátku analýzy došlo k přetočení kohoutu V1 k vyjmutí ochranné kolony z původní analytické cesty. Zároveň je na ochrannou kolonu připojen zdroj nosného plynu tak, aby směr toku byl opačný proti původnímu zapojení a druhý konec kolony je vyveden do detektoru. Potenciální produkty reakce, které do doby otočení nestihnou projít ochrannou kolonou se při jejím použití nemohou dostat na analytickou kolonu, kde by vykazovaly velmi dlouhé retenční časy, jejich píky by se kvůli axiálnímu promíchávání v koloně nepřesně odečítaly a tím by se



Obr. 2. Schéma experimentálního zařízení; R – pyrolyzní nástavec s reaktorem, V1 – přepínací kohout, K1 – ochranná protisměrně vymývaná kapilární kolona na záchyt těžkých frakcí, K2 – analytická kapilární kolona, I – zdroj nosného plynu, FID1, 2 – plamenionizační detektory

Tabulka II  
Rozmezí hodnot parametrů pro použitelnost aparatury

| Parametr                                   | Hodnota                |
|--|------------------------|
| Teplota v reaktoru, °C                     | max. 800               |
| Tlak v reaktoru, kPa                       | 150–500                |
| Průtok nosného plynu, ml·min <sup>-1</sup> | 10–400                 |
| Nosný plyn                                 | 1 plyn či směs 2 plynů |
| Vzorek                                     | kapalný, plyný         |

zhoršila přesnost stanovení hlavních komponent reakční směsi. Detekce vystupujících látek se na každé koloně prováděla zvláštním plameno-ionizačním detektorem.

## 2.3. Dávkování vzorku

Vzorek byl nastříkovan chromatografickou stříkačkou skrz septum do proudu nosného plynu. Plyný nástřík byl realizován vložením odpovídajícího množství kapalného vzorku do vzorkovacího sáčku naplněného nosným plynem a nástříkem par látky chromatografickou stříkačkou určenou pro plyné vzorky. V obou případech byla stříkačka upravena tak, aby konec jehly dosahoval až k nejsvrchnější vrstvě křemenné vaty. Bez uvedené úpravy by hrozilo ulpění nastříkovaného vzorku v chladnější části reaktoru, což by se následně negativně projevilo na tvaru pulzu.

## 3. Model homogenního pulzu unášeného nosným plynem v režimu pístového toku

K vyhodnocování naměřených hodnot je nutné vytvořit model procesu. Uvedený model je založen na těchto předpokladech:

- dávkovací zařízení vloží do proudu nosného plynu segment (pulz), který je homogenní, tj., v němž je koncentrace složek nezávislá na poloze v segmentu,
- segment je homogenní i v průběhu reakce průchodem vrstvou katalyzátoru,
- tento segment je unášen nosným plynem v režimu pístového toku, tj.
- neprobíhá výměna složek mezi segmentem a nosným plynem podélným promícháváním nebo podélnou difuzí.

Při splnění uvedených požadavků probíhá v segmentu (pulzu) reakce za stejných podmínek, za jakých by probíhala v kontinuálním trubkovém katalytickém reaktoru s pístovým tokem. Na základě uvedených předpokladů je možné určit ekvivalentní rychlost nástříku reakční směsi v kontinuálním reaktoru odpovídající reaktoru pulznímu. Je to rychlost nástříku, při níž by objemová rychlost reakční směsi ( $F_{pe}$ ) byla stejná jako objemová rychlost nástříku

nosného plynu ( $F_n$ )

$$F_{pe} = F_n \quad (1)$$

Z rovnice (1) plyne ekvivalentní zatížení katalyzátoru ( $Z_e$ ) definované vztahem

$$Z_e = \frac{F_{pe}}{w} = \frac{F_n}{w} \quad (2)$$

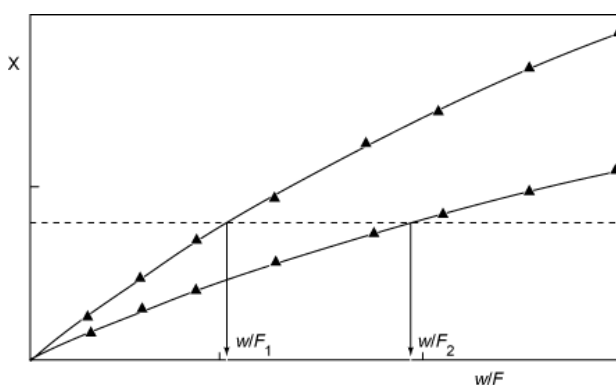
kde  $w$  je celkové množství katalyzátoru v reaktoru. Protože se předpokládá, že se pulz pohybuje reaktorem jako izolovaný segment, není ekvivalentní zatížení katalyzátoru závislé na hmotnosti nastříkovaného pulzu, ale je určeno rychlostí nástřiku nosného plynu. Zatížení katalyzátoru je proto možné průtokem nosného plynu měnit.

### 3.1. Uzanění postupy hodnocení aktivity katalyzátoru

Při měření v pulzním reaktoru je výsledkem měření složení vystupujícího pulzu pro známé složení pulzu vstupního. Z údajů o koncentracích složek je možné vyhodnotit stupeň přeměny klíčové složky. Při použití uzančnických postupů je z naměřených údajů určována relativní aktivita katalyzátoru, aniž je vyhodnocována rychlostní rovnice procesu a hodnota rychlostní konstanty. Porovnání aktivity katalyzátoru je založeno na porovnání zatížení porovnávaných katalyzátorů, při nichž je dosaženo stejného stupně přeměny klíčové složky. Na porovnávaných katalyzátorech jsou určeny experimentálně závislosti stupně přeměny na průtoku nosného plynu při stejném složení pulzu (obr. 3), z nichž je pak určen poměr aktivity podle vztahu:

$$\frac{k_1}{k_2} = \frac{Z_{e1}}{Z_{e2}} = \frac{F_{n1}}{F_{n2}}, \quad x_1 = x_2 \quad (3)$$

kde  $k$  je rychlostní konstanta a  $x$  konverze klíčové složky.



Obr. 3. Ilustrační schéma porovnání aktivity dvou různých katalyzátorů;  $x$  – konverze,  $w$  – hmotnost katalyzátoru,  $F$  – průtok reakční směsi

### 3.2. Uzanění postupy hodnocení selektivity katalyzátoru

Podstatou hodnocení selektivity je porovnání obsahu vedlejších nežádoucích produktů při použití různých katalyzátorů. Protože selektivita procesu je závislá na stupni přeměny hlavní složky, je nutné porovnávat obsah vedlejších produktů při stejném stupni přeměny klíčové složky (obr. 4).

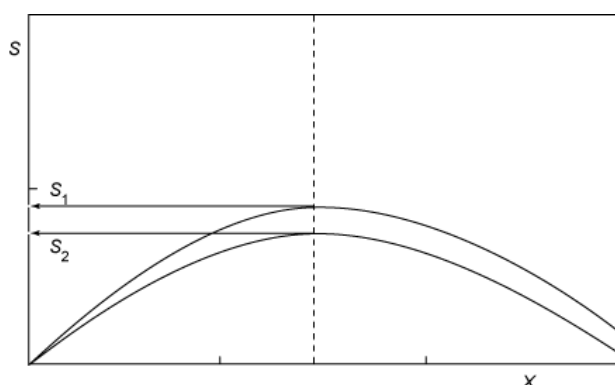
Aby bylo uzanění stanovení spolehlivé, musí být splněny podmínky modelu homogenního pulzu unášeného nosným plynem v režimu pístového toku. Dále pak musí být splněna podmínka, že je koncentrační struktura pulzu neměnná, nezávislá na rychlosti nástřiku nosného plynu. To je splněno, když pulz tedy není ředěn nosným plynem a dávkovací zařízení je schopné vložit do proudu nosného plynu segment, jehož stav není ovlivněn rychlostí nástřiku nosného plynu. Dále je to splněno, když je pulz ředěn, ale je ředěn vždy stejným způsobem.

Pokud by byl pulz ředěn nosným plynem a míra ředění by byla závislá na rychlosti nástřiku nosného plynu, pak se při změně rychlosti nástřiku nosného plynu překrývají dva efekty: efekt změny zatížení katalyzátoru a efekt ředění reakční směsi. Ředění nemá vliv na výsledek pouze u reakce prvního řádu. U reakcí nižšího řádu zvyšuje stupeň přeměny, u reakcí vyššího řádu snižuje stupeň přeměny.

Zdrojem nejistoty porovnávání katalyzátorů určených pro použití v kontinuálním trubkovém reaktoru je i skutečnost, že v pulzním reaktoru katalyzátor nepracuje, nebo nemusí pracovat v stacionárním stavu. Stav povrchu katalyzátoru z hlediska adsorpční rovnováhy je tedy odlišný od stavu v průtočném trubkovém reaktoru.

### 3.3. Vyhodnocení rychlostní rovnice reakce z údajů naměřených v pulzním reaktoru

Pro sestavení matematického modelu je účelné zavést model ekvivalentního kontinuálního průtočného trubkového reaktoru v stacionárním stavu. Je to trubkový katalytic-



Obr. 4. Ilustrační schéma porovnání selektivit ( $S_1$  a  $S_2$ ) dvou různých katalyzátorů;  $x$  – konverze

ký reaktor s pístovým tokem, který pracuje při ekvivalentním zařízení odvozeném z režimu reaktoru pulzního, při stejné teplotě a tlaku. K popisu je pak možné použít rutinní postupy používané pro průtočný trubkový reaktor. Odvození rovnic je založeno na bilanci složky pro diferenční úsek reaktoru obsahující množství katalyzátoru  $dw$  ve stacionárním stavu. Bilanční rovnice složky  $i$  má tyto položky: rychlost vnášení složky + rychlost vzniku v elementu = rychlost vynášení složky, které lze vyjádřit rovnicí (4).

$$F_e c_{is} + r_i dw = F_e (c_{is} + (dc_{is}/dw)dw) \quad (4)$$

ve které  $c_i$  představuje koncentraci  $i$ -té složky a  $r_i$  rychlost vzniku této složky. Výsledkem je soustava diferenciálních rovnic, kde je počet rovnic roven počtu reagujících složek

$$\frac{dc_{is}}{d(w/F_e)} = r_i \quad (5)$$

Pro výpočet koncentrace se zpravidla využívá stavová rovnice ideálního plynu

$$c_i = X_i \frac{p}{RT} \quad (6)$$

kde  $X_i$  je molární zlomek  $i$ -té složky ve směsi,  $p$  tlak,  $R$  molární plynová konstanta a  $T$  teplota. Do modelu pak je nutné vložit stechiometrické vztahy plynoucí ze stechiometrických rovnic.

### 3.4. Test obecné platnosti výsledku

Má-li mít získaný výsledek obecnou platnost, tj. nemá-li být specifický jen pro dané uspořádání aparatury, musí být nezávislý na množství použitého katalyzátoru. To znamená, že při opakovaném měření s různým množstvím katalyzátoru musí být výsledek stejný pro stejnou hodnotu zatížení  $Z_e$ , nezávisle na použitém množství katalyzátoru.

## 4. Příklad aplikace

Jako jednoduchá modelová reakce byla zvolena dehydrogenace cyklohexanu na benzen. Tato reakce byla katalyzována komerčním palladiovým katalyzátorem Cherox 40-00 (Chemopetrol a.s.) o velikosti zrn 0,4–0,8 mm, aktivovaným zahříváním na 350 °C v proudu vodíku po dobu 2 h. Série měření byla provedena s navázkou katalyzátoru 0,0330 g. Tlak v systému byl udržován na hodnotě 184 kPa a při poslední sérii experimentů byl zvýšen na 300 kPa. Teplota na termoregulátoru  $T_{reg}$  byla postupně nastavena na 300, 350 a 400 °C. Skutečná teplota v loži katalyzátoru byla určena z kalibrační závislosti popsané v části 2.1. Jako nosný plyn byla použita směs vodíku a dusíku v poměru 1:10 (obj.) a do reaktoru bylo nastříkáváno 0,1 ml kapalného cyklohexanu. Byl sledován vliv zatížení katalyzátoru na konverzi reakce. Nastavení různých hodnot zatížení bylo prováděno změnou průtoku

nosného plynu reaktorem.

Při vyhodnocování experimentálních dat bylo předpokládáno, že nedochází v průběhu měření k významnější deaktivaci katalyzátoru. Tento předpoklad byl potvrzen pokusem, při němž byl do reaktoru opakovaně nastříknut větší počet vzorků za stejných podmínek. Jeden vzorek katalyzátoru mohl proto být používán vždy pro celou sérii měření.

Pro identifikaci matematického modelu bylo důležité posoudit význam zpětné reakce ve zvoleném rozsahu reakčních podmínek. Proto byla do reaktoru při teplotě 350 °C nastříknuta směs benzenu s vodíkem. Průtok nosného plynu byl volen tak, aby byla doba zdržení vzorku v reaktoru co nejdelší. Ani za těchto podmínek nedosahovala konverze reakce 1 %. Proto lze v návrhu kinetického modelu zanedbat zpětnou reakci. Kromě obecných předpokladů o chování reaktoru uvedených v části 3 byly matematické modely postaveny na následujících předpokladech:

- v systému probíhá jediná katalyzovaná reakce – dehydrogenace cyklohexanu,
- v systému je udržována konstantní hodnota tlaku,
- vzorek vstupuje do lože katalyzátoru jako přibližně obdélníkový pulz a šíří se reaktorem v podobě homogenního válcového segmentu unášeného nosným plynem,
- tepelné zabarvení reakce je zanedbatelné. Tepelná kapacita inertní vrstvy je mnohem větší než tepelná kapacita nosného plynu i zplyněného vzorku a tlumí jakékoli výkyvy v teplotě způsobené odpařením vzorku či vlastní endotermní reakcí,
- zvýšení rychlosti proudění reakční směsi v důsledku expanze vzorku při odpaření je zanedbatelné. Objem nastříkovaného vzorku je velmi malý a navíc i v tomto případě působí inertní vrstva jako tlumič expanze a zajišťuje rovnoměrné rozložení toku.

Matematický model byl odvozen na základě chemické rovnice:



a bilančního vztahu (5), ve kterém byla pro popis reakční rychlosti použita mocninová kinetika (viz rovnice (7)).

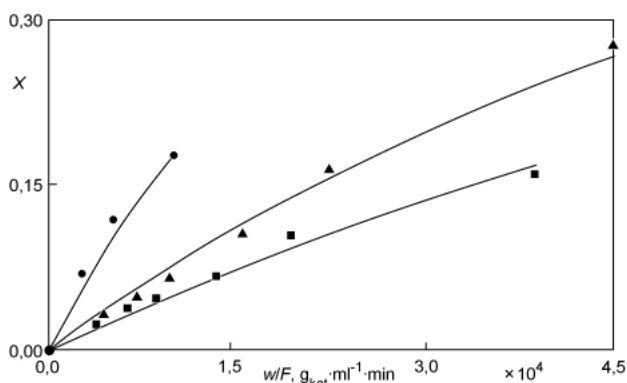
$$\frac{dc_{As}}{d(w/F_e)} = kp_A^n v_A = -k (X_A p)^n = -k \left( \frac{1-x}{1+3x} p \right)^n \quad (7)$$

kde  $x$  představuje konverzi cyklohexanu a  $X_A$  molární zlomek cyklohexanu v nástřiku. Po převedení levé strany rovnice na konverzi přejde vztah na rovnici (8), která byla použita pro zpracování regresní analýzou.

$$\frac{dx}{d(w/F_e)} = -k \left( \frac{1-x}{1+3x} p \right)^n \frac{(1+3x)^2}{4} \frac{RT}{p} \quad (8)$$

Závislost rychlostní konstanty  $k$  na teplotě je vyjádřena Arrheniovou rovnicí (9):

$$k = k_{ref} \exp\left(\frac{E(T - T_{ref})}{RTT_{ref}}\right) \quad (9)$$



Obr. 5. Srovnání dat naměřených při dehydrogenaci cyklohexanu a dat simulovaných modelem mocninové kinetiky; ■ 250 °C, ▲ 300 °C, ● 350 °C

Tabulka III

Kinetické parametry modelu mocninové kinetiky pro hydrogenaci cyklohexanu na Pd katalyzátoru získané regresní analýzou

| Parametr   | Hodnota | Konfidenční<br>meze 95 % |
|--|---------|--------------------------|
| $k_m$ , 348 °C, mol·g <sub>kat</sub> <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup> ·MPa <sup>-n</sup> | 0,44    | 0,2–0,8                  |
| $E$ , kJ·mol <sup>-1</sup>   | 22      | 15–30                    |
| $n$  | 2,2     | 1,9–2,5                  |

kde  $E$  je zdánlivá aktivační energie a  $T_{ref}$  je referenční hodnota teploty zvolená jako vážený průměr teplot jednotlivých měření.

Rovnice (8) a (9) tvoří kinetický model popisující závislost změny konverze podle zatížení reaktoru při různých teplotách a tlacích. Kinetické parametry tohoto modelu byly vyhodnoceny v programu ERA 3.0 (cit.<sup>4</sup>) a jsou shrnuty v tabulce III. Na obr. 5 je vynesena závislost konverze na době zdržení reakční směsi v reaktoru. Jednotlivé křivky představují různé hodnoty teploty termoregulátoru 300, 350 a 400 °C. Pro názornost byly v obrázku (nikoliv však pro vlastní vyhodnocení) použity teploty na termoregulátoru namísto teplot v reaktoru, které se pro jednotlivé hodnoty průtoku mírně liší, což zdánlivě zvyšuje rozptýl naměřených hodnot. Z grafu je patrné, jak konverze vychází látky roste s dobou zdržení a teplotou.

Model mocninové kinetiky tedy na základě experimentálních dat popisuje probíhající hydrogenaci jako reakci přibližně druhého řádu vzhledem k cyklohexanu. Odhadnutá hodnota aktivační energie je nicméně v souladu s publikovanými pracemi z jiných typů reaktorů. Pro popis systému byl rovněž testován Langmuir-Hinshelwoodův model, jehož aplikace přinesla podobné výsledky.

## 5. Závěr

Výsledky práce potvrdily, že mikropulzní technika představuje efektivní nástroj pro studium kinetiky heterogenně katalyzovaných reakcí v plynné fázi. Umožňuje za použití malého množství testovaného katalyzátoru i reakční směsi rychlé provedení velkého množství experimentů, a tím i získání obsáhlého souboru experimentálních dat. Naměřená data mohou pomoci při volbě nejvhodnějšího katalyzátoru pro danou reakci, při optimalizaci podmínek, při kterých reakce probíhá nebo při sestavení kinetického modelu a návrhu mechanismu reakce.

*Tato práce vznikla za podpory Grantové agentury České republiky (grant č. 104/01/P040).*

## LITERATURA

- Christoffel E. G., v knize: *Laboratory Studies of Heterogeneous Catalytic Processes, Studies in Surface Science and Catalysis* (Delmon B. a Yates J. T., ed.), kap. 42. Elsevier, Amsterdam 1989.
- Mills P. L., Lerou J. J.: *Rev. Chem. Eng.* 9, 1 (1993).
- Igarashi A., Ogino Y.: *Appl. Catal.* 2, 339 (1982).
- Zámotný P., Bělohav Z.: *Comput. Chem.* 23, 479 (1999).
- Webster C. E., Drago R.S., Zerner M. C.: *J. Am. Chem. Soc.* 120, 5509 (1998).
- Campelo J. M., Lafont F., Marinas J. M.: *Appl. Catal., A* 170, 139 (1998).
- Aberuagba F., Susu A. A.: *Chem. Eng. Process.* 38, 179 (1999).
- Aberuagba F., Susu A. A.: *Petroleum Sci. Technol.* 20, 741 (2002).
- Aberuagba F.: *React. Kinet. Catal. Lett.* 70, 243 (2000).
- Susu A. A., Ako C. T.: *Appl. Catal.* 16, 179 (1985).
- Lipiäinen K., Hagelberg P., Aittamaa J., Eilos I., Hiltunen J., Niemi V. M., Krause A. O. I.: *Appl. Catal., A* 183, 411 (1999).
- Ako C. T., Susu A. A.: *J. Chem. Tech. Biotechnol.* 36, 519 (1986).
- Collyer R., Larocca M., de Lasa H.: *Can. J. Chem. Eng.* 67, 955 (1989).
- Christoffel E. G., Surjo I. T., Robschlagel K. H.: *Can. J. Chem. Eng.* 58, 513 (1980).
- Ayo D. B., Susu A. A.: *Appl. Catal.* 40, 1 (1988).
- Sica A. M., Valles E. M., Gigola C. E.: *J. Catal.* 51, 115 (1978).

## Seznam symbolů

|     |   |
|-----|---|
| $c$ | molární koncentrace, mol·m <sup>-3</sup>                    |
| $E$ | zdánlivá aktivační energie, J·mol <sup>-1</sup>             |
| $F$ | objemová rychlost nástřiku, m <sup>3</sup> ·s <sup>-1</sup> |

|       |  |
|-------|--|
| $k$   | rychlostní konstanta, $\text{mol} \cdot \text{g}_{\text{kat}}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-n}$ |
| $n$   | řád reakce   |
| $p$   | tlak v reaktoru, Pa  |
| $r$   | rychlost reakce, $\text{mol} \cdot \text{g}_{\text{kat}}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$                           |
| $S$   | selektivita  |
| $T_r$ | teplota v reaktoru, K  |
| $T_w$ | měřená teplota stěny reaktoru, K   |
| $w$   | celková hmotnost katalyzátoru, $\text{g}_{\text{kat}}$   |
| $x$   | konverze   |
| $X_i$ | molární zlomek látky $i$   |
| $Z$   | zatížení katalyzátoru, $\text{m}^3 \cdot \text{g}_{\text{kat}}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$                     |

**P. Zámotný, Z. Bělohav, and P. Chládek**  
*(Department of Organic Technology, Institute of Chemical Technology, Prague): Utilization of Microcatalytic Pulse Reactors for Testing Catalysts*

The article focuses on some aspects of using microcatalytic pulse reactors for studying kinetics of heterogeneously catalyzed reactions. A number of literature data regarding application of the reactors in heterogeneous catalysis and for estimation of kinetic parameters are summarized. In the experimental part, adaptation of a pyrolysis chromatograph to a microcatalytic reactor is described. The results of its testing on a model reaction using two types of mathematical models with non-linear regression are discussed.

## Indexy

|   |                      |
|---|----------------------|
| e | ekvivalentní hodnota |
| n | pro nosný plyn       |
| p | pulz                 |
| s | střední hodnota      |



## Nabídka zaměstnání

Výzkumný ústav organických syntéz a.s.

přijme

### Vedoucího výzkumného projektu

#### Požadavky:

- VŠ chemické vzdělání nejlépe s analytickým zaměřením,
- komunikační a koordinační schopnosti, samostatnost,
- ochota učit se, tvůrčí řešení problémů.

#### Nabízíme:

- zaměstnání v rozvíjející se české firmě,
- zajímavou a různorodou práci,
- moderní přístrojové zázemí v oblasti výzkumu,
- zaměstnanecké výhody.

### Analytického chemika do laboratoře HPLC

#### Požadavky:

- VŠ chemické vzdělání s analytickým zaměřením,
- praxe v oblasti chromatografické separace výhodou,
- ochota učit se, tvůrčí řešení problémů.

#### Nabízíme:

- zaměstnání v rozvíjející se české firmě,
- zajímavou a různorodou práci,
- moderní přístrojové zázemí v oblasti výzkumu,
- zaměstnanecké výhody.

#### Kontakt:

VÚOS a.s., Rybitví 296, 532 18 Pardubice 20, www.vuos.cz  
 Ing. Michal Bartoš, tel.: 466822501, 736505671, e-mail: michal.bartos@vuos.cz

## CHARAKTERIZÁCIA A IDENTIFIKÁCIA OCTOVÝCH BAKTÉRIÍ

MIROSLAVA KRETOVÁ a JOZEF GRONES

Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Mlynská dolina B-2, 842 15 Bratislava 4, Slovenská republika  
jozef.grones@fns.uniba.sk

Došlo 27.1.04, prepracované 27.7.04, prijaté 15.9.04.

Kľúčové slová: *Acetobacter*, octové baktérie, identifikácia baktérií, ITS-PCR identifikácia

### Úvod

Octové baktérie patria do skupiny mikroorganizmov vyskytujúcich sa v prírode a v poslednom období hrajú dôležitú úlohu v potravinárskej a farmaceutickej výrobe pre ich nenáročnosť na kultivačné podmienky, schopnosť rasti pri nízkych hodnotách pH prostredia, schopnosť utlizovať uhľkatý substrát a premieňať ho na organické kyseliny. Schopnosť oxidovať cukry predurčuje octové baktérie k rastu na ovocí a schopnosť oxidovať etanol na kyselinu octovú im umožňuje rasiť v ovocných nápojoch ako je víno a mušty. Majú významný podiel na ochutení niektorých jedál, ale tiež môžu pokaziť chuť piva, džusov, vína a ovocia<sup>1</sup>.

Bunky rodu *Acetobacter* charakterizuje elipsoidný až tyčinkovitý tvar s veľkosťou 0,6–0,8 × 1–4 μm. Vyskytujú sa jednotlivito, v pároch, alebo tvoria retiazky. Pohybujú sa pomocou peritrichálnych bičiek, u rodu *Gluconobacter* sú bičky polárne. Najlepšie rastú pri teplote 25–30 °C, ale dokážu tolerovať teplotu medzi 10–42 °C. Optimálne pH prostredia pre rasiť je medzi 5,5–6,0, pre produkciu kyseliny octovej medzi 4,0–4,5. Majú všetky enzýmy cyklu trikarboxylových kyselín a obsah GC párov v molekule DNA je 55–63 %.

V súčasnosti sú octové baktérie významným objektom štúdia molekulárnej biológie. Štúdium je zamerané na objasnenie usporiadania a organizácie génov dôležitých metabolických dráh, na restriktívno-modifikačný systém<sup>2–4</sup>, a tiež na funkciu extrachromozómovej plazmidovej DNA<sup>5–8</sup>, ako aj iných genetických elementov, ako sú inzerčné sekvencie a transpozóny<sup>9</sup>.

Taxomómia octových baktérií sa za posledné roky niekoľkokrát zmenila. Rod *Acetobacter* bol pôvodne zaradený do čeľade *Pseudomonadaceae*, spolu s rodmi *Gluconobacter* a *Pseudomonas*. V súčasnosti octové baktérie tvoria samostatnú čeľaď *Acetobacteriaceae*, do ktorej boli pôvodne zaradené dva rody *Acetobacter* a *Gluconobacter*<sup>10</sup>. V poslednom období sa čeľaď rozšírila o ďalšie rody *Gluconoacetobacter*, *Acidomonas*<sup>11</sup>, neskôr boli

pridané rody *Asaia*<sup>12</sup>, *Kozakia*<sup>13</sup>, čím sa čeľaď rozšírila na súčasných šesť rodov.

Fenotypická identifikácia octových baktérií z hľadiska druhového odlišenia je veľmi náročná. Jedným z dôvodov je vysoká frekvencia spontánnych mutácií ako aj prítomnosť inzerčných elementov<sup>14</sup>. Klasické metódy identifikácie fenotypov nie sú schopné postrehnúť menšie rozdiely v kmeňoch, čo výrazne zmenilo používanie molekulárnych metód zameraných na identifikáciu konzervatívnych špecifických DNA oblastí<sup>15</sup>. Klasické metódy identifikácie boli predovšetkým založené na testoch metabolických schopností bunky<sup>10</sup>, hybridizácii DNA s rDNA (DNA po PCR reakcii rRNA), plazmidových profilov alebo DNA/DNA hybridizácii<sup>16</sup>.

Na genotypizáciu fenotypových rodov baktérií sa využíva niekoľko metód. Prvou je metóda RAPD (cit.<sup>17</sup>) založená na porovnávaní náhodne amplifikovanej DNA z náhodného 10 bp dlhého prajmeru a porovnávanie konzervatívnych oblastí 16S rRNA a 23S rRNA (cit.<sup>16,18</sup>). Druhou progresívnou metódou identifikácie je metóda ARDRA, ktorá využíva štiepenie produktov PCR s restriktívnymi endonukleázami rozpoznávajúcimi tetranukleotidovú štiepiacu sekvenciu a následne porovnanie veľkosti fragmentov<sup>19</sup>. PCR-RFLP ako tretia metóda identifikácie sa využíva pri identifikácii polymorfizmu baktérií nielen na úrovni rodov, ale aj druhov. Využíva sa amplifikácia časti 16S rRNA a porovnávajú sa rozdiely v nukleotidovej sekvencii konzervatívnych oblastí vo vnútri druhu, ale aj medzi druhovo<sup>20,21</sup>.

Identifikácia a separácia bakteriálnych druhov klasickými mikrobiologickými metódami má obmedzené možnosti, ktoré vyplývajú z používaných metód závislých na morfológických a metabolických vlastnostiach buniek. Preto sa pre presné zatriedenie baktérií pristupuje k moderným a citlivým metódam porovnávania génomov baktérií v oblastiach konzervatívnych sekvencií, ktoré výhodne doplnia známe metabolické schopnosti buniek, a tým umožnia presné zaradenie mikroorganizmu do správnych rodov, druhov a poddruhov. Takýto zámer má aj naša práca, pri ktorej sme sa snažili porovnať správnosť druhového zaradenia štyroch zbierkových kmeňov *Acetobacter pasteurianus* využitím vzájomného porovnania medzi génových oblastí medzi 16S a 23S rRNA využitím ITS-PCR identifikačnej metódy.

### Materiál a metódy

#### Bakteriálne kmene a kultivačné podmienky

Všetky kmene *A. pasteurianus* subsp. *ascendens* CCM 3612, *A. pasteurianus* subsp. *paradoxus* CCM 3614, *A. estunensis* CCM 3613, *A. pasteurianus* CCM 2374 sú kmene z Českej zbierky mikroorganizmov v Brne. Bunky boli kultivované na YPG médiu (5 % kvasničný autolyzát, 3 % peptón a 2 % glukóza). Kmene boli kultivované v 150 ml bankách s 20 ml YPG média 24 h pri teplote 28 °C na rotačnej trepačke GLF 3032 pri 180 ot.min<sup>-1</sup>. Bunky *Es-*



*cherichia coli* XL1 Blue boli kultivované na Luria-Bertani (LB) kultivačnom médiu pri 37 °C (cit.<sup>22</sup>).

#### Izolácia chromozómovej DNA

Chromozómová DNA z buniek *Acetobacter* bola izolovaná modifikovanou metódou popísanou v práci Poblet<sup>21</sup>. Rozrastené bunky z 3 ml YPG média usadíme centrifugáciou pri 12 000 g pri teplote 4 °C. Sediment suspendujeme v 200 µl roztoku GET (50 mmol.l<sup>-1</sup> glukóza, 10 mmol.l<sup>-1</sup> EDTA pH 8,0, 25 mmol.l<sup>-1</sup> Tris.HCl pH 8,0), pridáme 4 mg.ml<sup>-1</sup> lyzozymu a zmes inkubujeme 10 min pri laboratórnej teplote. Po inkubácii pridáme 400 µl 3 % (w/v) roztoku SDS a po jemnom premiešaní inkubujeme 10 min pri laboratórnej teplote. K zmesi pridáme 100 µl tlmivého roztoku TE (10 mmol.l<sup>-1</sup> Tris.HCl pH 8,0, 1 mmol.l<sup>-1</sup> EDTA), 700 µl zmesi fenol-chloroform (1:1). Po pretrepaní a následnej 10 min centrifugácii pri 12 000 g odoberieme vrchnú vodnú fázu a prezrážame dvojnásobným objemom vychladeného etanolu. Vyžrážanú DNA preniesieme sklenenou tyčinkou do inej skúmavky a rozpustíme v 500 µl sterilnej deionizovanej vody.

#### Molekulárno - biologické metódy

Pri purifikácii plazmidovej DNA a rekombinantných molekúl DNA bola použitá Birnboim a Doly metóda<sup>23</sup>. Pre prípravu rekombinantných DNA bol použitý klonovací vektor pBlueSK<sup>+</sup> (Stratagene), restriktčné endonukleázy EcoRI, HaeIII, HpaII, SmaI, a SphI a T4 DNA ligáza, DNA polymeráza I Klenowov fragment a Taq DNA polymeráza (Gibco BRL). Pre transformáciu boli použité kompetentné bunky *E. coli* XL1 Blue<sup>24</sup> a transformanty selektované na LB médiu s X-Gal (40 µg.ml<sup>-1</sup>), IPTG (0,5 mmol.l<sup>-1</sup>) a ampicilínom (100 µg.ml<sup>-1</sup>).

#### PCR amplifikácia ITS oblastí rRNA

Substrátom pre ITS PCR bola izolovaná chromozómová DNA z buniek *Acetobacter*. 25 µl reakčnej zmesi obsahovalo 10 mmol.l<sup>-1</sup> Tris.HCl pH 8,8, 50 mmol.l<sup>-1</sup> KCl, 1,5 mmol.l<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub>, 0,05 % Tween 20, 200 µmol.l<sup>-1</sup> zo všetkých dNTP, 0,8 µmol.l<sup>-1</sup> z prajmerov L1 (5'-CAAGGCATC-CACCGT-3') a G17 (5'-GAAGTCGTAACAAGG-3'), 1U Taq DNA polymeráza a 2 µl templátovej DNA. Reakcia PCR sa uskutočnila v termocykléri BIOMETRA UNO II s nasledovným nastavením programu: DNA denaturácia 1 min pri 94 °C, anelácia 0,5 min pri 54 °C, 1 min amplifikácia pri 71 °C pri 30 cykloch.

#### Sekvenčná analýza

DNA po ITS PCR amplifikácii bola klonovaná do pBlueSK<sup>+</sup> klonovacieho vektora do SmaI miesta. Analyzované rekombinanty boli sekvenované využitím M13 univerzálneho a reverzného prajmera na automatickom sekvenátore ABI PRISM 310.

#### Elektroforéza

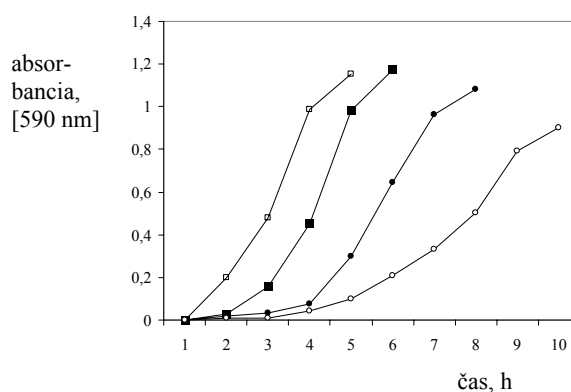
Produkty PCR a restriktčné fragmenty boli analyzované na 1–2 % agarózovom géli v TAE tlmivom roztoku<sup>22</sup> a v 4 % PAGE v TBE tlmivom roztoku<sup>22</sup>. Ako štandard bol použitý 100 bp DNA štandard plus (Fermentas). DNA fragmenty boli vizualizované po farbení etídium bromidom pod transiluminátorom 2011 Macrovie (LKB) a následne fotografované.

#### Výsledky a diskusia

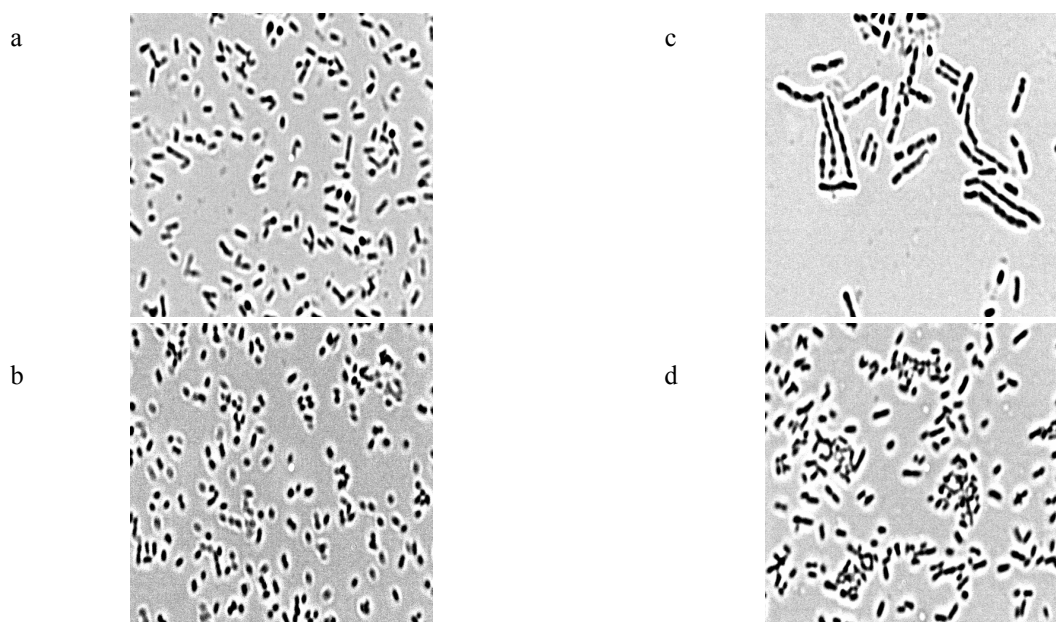
##### Fyziologická charakterizácia buniek *Acetobacter pasteurianus*

Za stúpajúcim významom octových baktérií v biotechnológiách výrazne zaostáva genetická charakterizácia jednotlivých bakteriálnych kmeňov. V predchádzajúcej práci sme sa predovšetkým zamerali na štúdium baktérií pôvodne zaradených do rodu *Acetobacter pasteurianus*. Z tejto skupiny sme izolovali restriktčné endonukleázy<sup>25</sup>, plazmidy<sup>8</sup>, sledovali sme produkciu β-galaktosidázy a jej sekreciu z buniek do prostredia<sup>26</sup>, ako aj schopnosť rastu buniek na ťažkých kovoch a inkorporáciu selénu do proteínov v bunkových štruktúrach<sup>27</sup>. Pri všetkých experimentoch sme využívali štyri základné kmene *Acetobacter pasteurianus* 3612, *Acetobacter pasteurianus* 3613, *Acetobacter pasteurianus* 3614 a *Acetobacter pasteurianus* 2374. Napriek tomu, že bakteriálne kmene sú zaradené do druhu *Acetobacter pasteurianus* výrazne sa od seba odlišujú z morfológického hľadiska ako aj rýchlosťou rastu v štandardnom kultivačnom médiu YPG. Bunky sme kultivovali na tekutom médiu YPG pri teplote 28 °C na rotačnej trepačke a v jednotlivých časových intervaloch sme merali absorbanciu pri 590 nm a skonštruovali rastové krivky všetkých štyroch bakteriálnych kmeňov. Ako vidieť z obrázka 1 najrýchlejšie rastú bunky *A. pasteurianus* 3614 a najpomalšie *A. pasteurianus* 2374.

Mikroskopickou analýzou sme sledovali tvar a veľkosť buniek všetkých štyroch kmeňov *A. pasteurianus*. Kmeň



Obr. 1. Rastová krivka buniek *Acetobacter* na YPG kultivačnom médiu pri teplote 28 °C. □ – *A. pasteurianus* 3614, ■ – *A. pasteurianus* 3612, ● – *A. estunensis* 3613 a ○ – *A. pasteurianus* 2374



Obr. 2. Mikroskopická vizualizácia baktérií; a – *Acetobacter pasteurianus* 3612, b – *Acetobacter pasteurianus* 3613, c – *Acetobacter pasteurianus* 3614, d – *Acetobacter pasteurianus* 2374 pri 800 násobnom zväčšení

*A. pasteurianus* 3614 rastie zo všetkých kmeňov najrýchlejšie, bunky sú najväčšie, vytvárajú retiazky a na pevných médiách tvoria plazivé kolónie (obr. 2c). Pomalším rastom môžeme charakterizovať bunky *A. pasteurianus* 3612, ktoré vytvárajú samostatné tyčinkovité bunky menšie ako *A. pasteurianus* 3614 (obr. 2a). Najpomalšie rastú bunky *A. pasteurianus* 2374, tvoria malé tyčinky, pričom ich rýchlosť rastu je takmer trikrát pomalšia ako u *A. pasteurianus* 3614 (obr. 2d). Osobitnú skupinu tvoria pomaly rastúce bunky *A. pasteurianus* 3613 (obr. 2b), ktoré na základe klasickej taxonómie boli pred časom priradené do druhu *Acetobacter estunensis* 3613. Rozdielnosť v morfológii a rýchlosti rastu buniek *A. pasteurianus* nás priviedla k tomu, aby sme sa pokúsili potvrdiť opodstatnenosť zaradenia všetkých štyroch baktérií do rovnakého druhu.

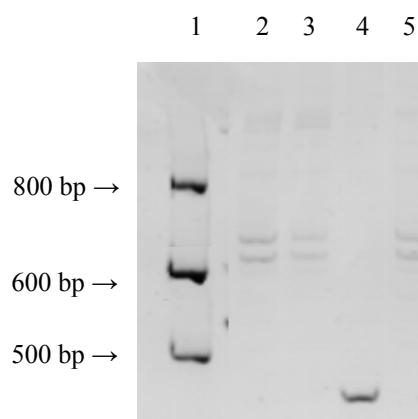
#### Tabuľka I

Veľkosti ITS PCR 16S-23S rDNA fragmentov z bakteriálnych kmeňov *Acetobacter pasteurianus* štiepených restriktívnou endonukleázou HaeIII a HpaII

| Kmeň  | Fragmenty PCR po štiepení |       |
|---|---------------------------|-------|
|   | HaeIII                    | HpaII |
| <i>A. estunensis</i> CCM 3613                             | 200, 300, 350             | 500   |
| <i>A. pasteurianus</i> CCM 2374                           | 200, 300, 350             | 500   |
| <i>A. pasteurianus</i> subsp. <i>ascendes</i> , CCM 3612  | 250, 250, 250             | 250   |
| <i>A. pasteurianus</i> subsp. <i>paradoxus</i> , CCM 3614 | 250, 220                  | 250   |

#### Klonovanie ITS PCR 16S–23S rRNA fragmentov

Zo všetkých štyroch kmeňov buniek *Acetobacter* sme izolovali chromozómovú DNA metódou popísanou v časti Materiál a metódy. DNA sme využili na PCR amplyfikáciu medzerníkových oblastí medzi 16S–23S rRNA využitím dvoch prajmerov L1 a G17 (cit.<sup>28</sup>). ITS PCR amplyfikáciou sme získali dva fragmenty veľkosti 623 bp a 711 bp pre bakteriálne kmene *Acetobacter pasteurianus* 3612, *Acetobacter estunensis* 3613, *Acetobacter pasteurianus*



Obr. 3. Elektroforetogram získaných ITS-PCR profilov druhov rodu *Acetobacter*. 1 – štandard molekulej hmotnosti, 2 – *A. pasteurianus* 3612, 3 – *A. estunensis* 3613, 4 – *A. pasteurianus* 3614, 5 – *A. pasteurianus* 2374

```

1
ggaccgacaggaattcgctccttaggaccggttagttacggccgccggtttactggggcttcaattcgca
ggaccgacaggaattcgctccttaggaccggttagttacggccgccggtttactggggcttcaattcgca
-----ccttaggaccggttagttacggccgccggtttaccgggcttcaatt--ca

71
gcttcgcttgcgctaaccactcctcttaaccttccagcaccgggcaggcgcagcccctatacgtcacctt
gcttcgcttgcgctaaccactcctcttaaccttccagcaccgggcaggcgcagcccctatacgtcacctt
g-----tgctctcacacctcctcttaaccttccggcaccgggcaggcgcagaccctatacgtcgtctt

141
acggttttgcagagacctgtggttttgcataaacagtcgctgggctattcactgcggtctctcatgcgct
acggttttgcagagacctgtggttttgcataaacagtcgctgggctattcactgcggtctctcatgcgct
tcgacttcgagagtcctgtggttttaataaacagtcgct-----
tgggcctattcactgcggtctctcatgcgct

211
tgcacgctcaagagcacccttctcccgaagttacggggtcattttgcccagttccttaacgagagttct
tgcacgctcaagagcacccttctcccgaagttacggggtcattttgcccagttccttaacgagagttct
-----cctatcccgaagttacagagcaatttgcttagttccttcagcatcgttct
tgcacgctcaagagcacccttctcccgaagttacggggtcattttgcccagttccttaacgagagttct

281
ctcgcacaccttaggattctctcctcgactacctgtgctcggtttgcggtacgggcacctctcacctcgat
ctcgcacaccttaggattctctcctcgactacctgtgctcggtttgcggtacgggcacctctcacctcgat
ctcaagcgccttggtattctcctaccagtcacctgtgctcggtttgcggtacgg-----
ctcgcacaccttaggattctctcctcgactacctgtgctcggtttgcggtacgggcacctctcacctcgat

351
agaggcttttcttggcagtggtgaaatcaggaacttcgctccttaaaggactcgccatcacagctcaacggt
agaggcttttcttggcagtggtgaaatcaggaacttcgctccttaaaggactcgccatcacagctcaacggt
-----
agaggcttttcttggcagtggtgaaatcaggaacttcgctccttaaaggactcgccatcacagctcaacggt

421
acagtggtgaggatttgctacacacacgccttactgcttggacgcgcaaccaacggcgcgcttacctt
acagtggtgaggatttgctacacacacgccttactgcttggacgcgcaaccaacggcgcgcttacctt
-----
acagtggtgaggatttgctacacacacgccttactgcttggacgcgcaaccaacggcgcgcttacctt

491
atcctactgctccccccatttctcaaacgggtgaggaggtggtacaggaatatcaacctggttgtccatc
atcctactgctccccccatttctcaaacgggtgaggaggtggtacaggaatatcaacctggttgtccatc
-----ggtacaggaatatcactggttcccatcg
atcctactgctccccccatttctcaaacgggtgaggaggtggtacaggaatatcaacctggttgtccatc

560
gcctacgcctatcggcctcggcttaggtcccgactaacctgagcggacgagccttctcagg -3613
gcctacgcctatcggcctcggcttaggtcccgactaacctgagcggacgagccttctcagg -3612
actacggctctcggcctcggccttagggcccgactaacctg----- -2374
gcctacgcctatcggcctcggcttaggtcccgactaacctgagcggacgagccttctcagg -3614

```

Obr. 4. Porovnanie ITS nukleotidových sekvencií štyroch analyzovaných kmeňov *A. estunensis* 3613, *A. pasteurianus* 3612, *A. pasteurianus* 3614 a *A. pasteurianus* 2374 (– označuje výrazne odlišné poradie nukleotidov ako majú ostatné tri kmene)

2374, čo determinuje prítomnosť dvoch alieli toho istého génu. V kmeni *Acetobacter pasteurianus* 3614 sme získali iba jeden fragment s veľkosťou 442 bp, čo determinuje prítomnosť jednej alely na chromozóme poprípade dvoch identických alieli (obr. 3).

#### Restriktčná analýza fragmentov ITS-PCR

ITS PCR amplifikáty medzerníkových oblastí 16S–23S rRNA sme osobitne štiepili restriktčnou endonukleázou HaeIII a HpaII. Získali sme fragmenty s veľkosťou od 200 do 350 bp pre HaeIII a fragmenty s veľkosťou 250 a 500 bp pre HpaII restriktčnú endonukleázu (tab. I). Veľkosti HaeIII fragmentov pre baktérie *A. pasteurianus* 2374 a *A. estunensis* 3613 sú rovnaké s veľkosťou 200 bp, 300 bp a 350 bp a pre HpaII 500 bp. Veľkosti fragmentov *A. pasteurianus* 3612 a *A. pasteurianus* 3614 sa od seba odlišujú, čo môže byť spôsobené aj rozdielnou veľkosťou amplifikovaného fragmentu. Podobné výsledky dosiahli Trček a Teuber<sup>29</sup> pri analýze 57 bakteriálnych kmeňov, kde na základe počtu a veľkosti fragmentov baktérie rozdelili na 16 až 21 podskupín. Naša skupina baktérií nepatrí ani do jednej zo skupín a vytvára ďalšie samostatné skupiny baktérií.

#### Porovnanie nukleotidových sekvencií medzerníkových oblastí 16S–23S rRNA

Na presné určenie podobnosti amplifikovaných nukleotidových sekvencií sme jednotlivé fragmenty klonovali do SmaI miesta klonovacieho vektora pBlueSK<sup>+</sup>. Sekvenčnou analýzou z M13 univerzálneho a reverzného prajmera sme určili primárnu štruktúru obidvoch fragmentov vo všetkých štyroch testovaných kmeňoch. Jednotlivé nukleotidové sekvencie sme vzájomne porovnali a vyhodnotili v programe Blast. Výsledky ukázali, že porovnané nukleotidové sekvencie medzerníkových oblastí buniek *A. pasteurianus* 3612 a *A. estunensis* 3613 sa podobajú takmer na 100 % (obr. 4). Nukleotidová sekvencia kmeňa *A. pasteurianus* 3614 sa s dvoma predchádzajúcimi kmeňmi zhoduje takmer na 75 %. Sekvencia je o 181 bp z 5'- konca molekuly rRNA kratšia ako v kmeňoch *A. pasteurianus* 3612 a *A. estunensis* 3613. Pri analýze kratších sekvencií sa všetky tri kmene podobajú takmer na 100 %. Na druhej strane nukleotidová sekvencia medzerníkových oblastí 16S–23S rDNA kmeňa *A. pasteurianus* 2374 je zhodná s predchádzajúcimi tromi sekvenciami na 53 %. Úplne podobné oblasti (okolo 98 %) sú však prerušované oblasťami, ktoré sa nezhodujú vôbec s predchádzajúcimi sekvenciami. V tomto kmeni je popísaná skupina štyroch plazmidov pAP1 až pAP4, skupina transpozónov, ktoré svojim pôsobením mohli zmeniť aj medzerníkové oblasti v kmeni *A. pasteurianus* 2374 (cit.<sup>30</sup>). Výsledky naznačili, že kmene *A. pasteurianus* subsp. *ascendens* 3612, *A. pasteurianus* subsp. *paradoxus* 3614 a *A. estunensis* 3613 patria pravdepodobne do toho istého druhu *A. pasteurianus* a zrejme bude kmeň *A. estunensis* 3613 treba premenovať na *A. pasteurianus* subsp. *estunensis* 3613, čo čiastočne naznačujú vyššie prezentované výsledky.

Nato, aby bolo možné jednoznačne rozhodnúť o preradení bakteriálneho kmeňa z jedného druhu do iného bude potrebné analyzovať aj konzervatívne oblasti 16S rRNA a 23S rRNA. Na základe ich podobností alebo rozdielov bude možné presne rozhodnúť o preradení a premenovaní kmeňa *A. estunensis* 3613.

#### S k r a t k y

- ARDRA – amplified rDNA restriction analysis (restriktčná analýza amplifikovaných fragmentov)  
 ITS – internal transcribed spacer (medzerníková oblasť)  
 RAPD – random amplified polymorphic DNA (polymorfizmus náhodnej amplifikácie DNA)  
 RFLP – restriction fragment length polymorphism (polymorfizmus dĺžky restriktčných fragmentov)  
 LB – Luria-Bertani kultivačné médium  
 X-gal – 5-brómo-4-chlóro-3-indoyl-β-galaktopyranozid  
 TAE – tris-acetátový tlmivý roztok  
 TBE – tris-borátový tlmivý roztok  
 SDS – dodecylsulfát sodný  
 IPTG – izopropyl-β-tiogalaktopyranozid

#### LITERATÚRA

- Swings J.: *A Handbook on the Biology of Bacteria*, díl III, str. 2268. Springer-Verlag, New York (1992).
- Seurinck J., Van de Voorde A., Van Montagu M.: *Nucl. Acids Res.* 11, 4409 (1983).
- Yamada Y., Murakami M.: *Agr. Biol. Chem.* 49., 3627 (1985).
- Grones J., Turňa J.: *Folia Microbiol.* 37, 353 (1992).
- Ohmori S., Nozumi T., Beppu T.: *Agr. Biol. Chem.* 46, 381 (1982).
- Masuda M., Kawasaki H., Tonomura K.: *Hakkokogaku* 61, 15 (1983).
- Grones J., Škereňová M., Turňa J.: *Biológia (Bratislava)* 46, 673 (1991).
- Grones J., Králová A., Turňa J.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 191, 26 (1993).
- Iversen T., Standal R., Pederson T., Coucheron D. H.: *Plasmid* 32, 206 (1994).
- De Ley J., Gillis M., Swings J.: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, (Krieg N. R., Holt J. G., Eds.), díl 1. Williams a Wilkins, Baltimore (1984).
- Yamada Y., Hashino K., Ishikawa Y.: *Bioschi. Biotechnol. Biochem.* 61, 1244 (1997).
- Yamada Y.: *Int. J. Sys. Evol. Microbiol.* 50, 2225 (2000).
- Lisdiyanti P., Kawasaki H., Widyastuti Y., Saono S., Seki T., Yamada Y., Uchimura T., Komagata K.: *Int. J. Sys. Evol. Microbiol.* 52, 813 (2002).
- Takemura H., Horinouchi S., Beppu T.: *J. Bacteriol.* 173, 7070 (1991).

15. Trček J., Teuber M.: FEMS Microbiol. Lett. 208, 69 (2002).
16. Sievers M., Ludwig W., Teuber M.: Sys. Appl. Microbiol. 17, 189 (1994).
17. Trček J., Ramuš J., Raspor P.: Food Technol. Biotechnol. 35, 63 (1997).
18. Sievers M., Alonso L., Gianotti S., Boesch C., Teuber M.: FEMS Microbiol. Lett. 142, 43 (1996).
19. Trček J., Raspor P.: Food Technol. Biotechnol. 37, 113 (1999).
20. Trček J., Raspor P., Teuber M.: Appl. Microbiol. Biotechnol. 53, 289 (2000).
21. Poblet M., Rozís N., Guillamón J. M., Mass A.: Lett. Appl. Microbiol. 31, 63 (2000).
22. Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T.: *A Laboratory Manual*, 2. vyd. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York (1989).
23. Birnboim H. C., Doly J.: Nucl. Acids Res. 7, 1513 (1979).
24. Grones J., Turňa J.: Biochim. Biophys. Acta 1162, 323 (1993).
25. Bullock W. O., Fernandez J. M., Short J. M.: Bio-Techniques 5, 376 (1987).
26. Grones J., Bencová K.: Folia Microbiol. 39, 99 (1994).
27. Grones J., Mačor M.: Chem. Listy 94, 129 (2000).
28. Jansen M.A., Webster J.A., Straus N.: App. Envir. Microbiol. 59, 945 (1993).
29. Trček J., Teuber M.: FEMS Microbiol. Lett. 208, 69 (2002).
30. Krahulec J., Kretová M., Grones J.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 310, 94 (2003).

**M. Kretová and J. Grones** (*Department of Molecular Biology, Comenius University, Bratislava, Slovak Republic*): **Characterisation and Identification of Acetobacter Bacteria**

Identification and classification of strains of *Acetobacter* bacteria were determined by standard methods of microbiology and molecular biology. 16S–23S rDNA internal transcribed spacer regions of four strains of genus *Acetobacter pasteurianus* were analysed in order to re-examine classification of these strains. By ITS-PCR amplification of the 16S–23S spacers, two products of similar size were produced for three analysed strains, but only a single product for one strain. The sequence of spacer regions of *Acetobacter* bacteria were subjected to restriction analysis by HaeIII, HpaII and AluI enzymes. After analysis we obtained three different restriction groups of strains of *A. pasteurianus* for all enzymes. Amplified products were sequenced and nucleotide sequences were compared. The results showed two identical sequences for three strains *A. pasteurianus* 3612, *A. pasteurianus* 3614 and *A. estunensis* 3613. Intergenic region of *A. pasteurianus* 2374 is 40 % similar to other tested bacteria.

---

## ZPRÁVY

---

### ESEAC 2004

Ve dnech 6.–10. června 2004 proběhla na Univerzitě v Galway v Irské Republice již 10. mezinárodní konference o elektroanalýze organizovaná Evropskou společností pro elektroanalytickou chemii (European Society for ElectroAnalytical Chemistry – ESEAC). 5 plenárních přednášek přednesených špičkovými odborníky v elektroanalytické chemii (A. J. Bard, D. Diamond, W. Schuhmann, H. H. Girault, D. Williams) poutavým způsobem seznámilo účastníky s moderními trendy v elektrochemické skenovací mikroskopii, vývoji elektrochemických senzorů a biosenzorů a jejich komerčním využití a elektrochemickém značkování při nanosprayové ionizaci polypeptidů. Na ně navázalo více než 30 kvalitních ústních sdělení rovnoměrně zaměřených na různé, dynamicky se rozvíjející oblasti elektroanalytické chemie. Součástí konference bylo i sympoium o nanotechnologiích se zaměřením na povrchy, systémy a senzory. Celkově konference dokumentovala rostoucí aktivitu vědecko-

výzkumných pracovníků v oblasti elektroanalytické chemie. Zvláště potěšující bylo neobyčejně vysoké procento mladých účastníků a jejich aktivita při ústních sděleních i při prezentaci posterů. Zájemci o konferenční materiály mohou kontaktovat autora tohoto článku, jehož účast na konferenci byla umožněna jednak grantem Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky v rámci projektu INGO LA034 (2004) (Reprezentace české analytické chemie ve Federaci evropských chemických společností) a jednak laskavou podporou firem Merck, s.r.o. Praha, Eco-Trend Plus s.r.o., Praha a ChromSpec, Praha. Autor jim touto cestou děkuje za jejich pochopení a podporu aktivit České společnosti chemické a Odborné skupiny analytické chemie.

*Jiří Barek*  
zástupce České společnosti chemické v DAC FECS  
Katedra analytické chemie PřF UK,  
Albertov 2030, 128 43 Praha 2,  
tel: 221 951 224, e-mail: Barek@natur.cuni.cz



## Sborník abstraktů

Konference  
Pokroky v organické, bioorganické  
a farmaceutické chemii

39. Konference

26.–28. listopadu 2004

### AMIDACE HM CITRUSOVÉHO PEKTINU POMOCÍ *n*-ALKYLAMIDŮ: KINETICKÉ STUDIUM

**ANDRIY SYNYTSYA<sup>a</sup>, JANA ČOPÍKOVÁ<sup>a</sup>,  
LUCIE SIHELNÍKOVÁ<sup>a</sup>, MILAN  
MAROUNEK<sup>b</sup>**

<sup>a</sup> Ústav chemie a technologie sacharidů, VŠCHT Praha,  
Technická 5, 166 28 Praha 6 Dejvice, <sup>b</sup> Ústav živočišné  
fyziologie a genetiky AV ČR, 277 21 Liběchov, Česká re-  
publika  
sinicaa@vscht.cz

Pektiny jsou rostlinné polysacharidy široce používané  
v potravinářském průmyslu. Pektiny jsou také známy jako  
součást vlákniny snižující obsah cholesterolu v krvi<sup>2</sup>. Chem-  
ická modifikace pektinů, mezi které patří amidace, ovliv-

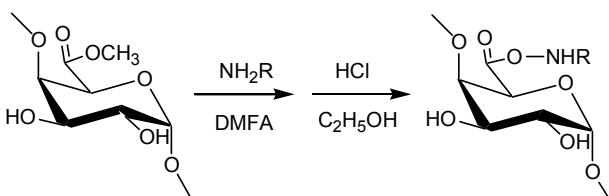


Schéma 1.

ňuje jejich technologické vlastnosti. Amidované pektiny  
jsou důležité želírující látky. Amonolýza methylesterových  
skupin vysokomethylovaných (HM) pektinů v heterogenní  
reakci s amoniakem v prostředí methanolu je běžně použí-  
vána k amidaci pektinu.

Amino-dealkoxylace (aminolýza) HM pektinu pomo-  
cí primárních aminů vede ke vzniku *N*-alkylpektinamidů  
(Schéma 1)<sup>3–5</sup>. Reakční výtěžek aminolýzy závisí na době  
reakce, reakční teplotě a poměru pektin/alkylamin. Amida-  
ce HM citrusového pektinu (type XSS, Danisco) byla pro-  
vedena v prostředí *N,N*-dimethylformamidu (DMFA)  
s pěti vybranými *n*-alkylaminami: *n*-butylaminem (**1**), *n*-he-  
xylaminem (**2**), *n*-octylaminem (**3**), *n*-dodecylaminem (**4**)  
a *n*-octadecylaminem (**5**). Reakce probíhala 1–9 dní při  
teplotách 20 °C (**1–3**) a 50 °C (**1–5**). Stupeň amidace (DA)  
produktů byl stanoven na základě obsahu dusíku (metoda  
Kjeldahla) v derivátech. Čistota derivátů byla kontrolová-  
na pomocí difúzně reflektančních FT-IR spekter.

Všechny deriváty připravené při 20 °C měly hodno-  
ty DA pod 10 % a hodnoty *N*-alkylpektinamidů přípra-  
vených při 50 °C byly 30 až 50 %. Bylo také zjištěno, že  
*n*-aminy s delším alkylem jsou účinnější amidační činidla  
při delší době reakce (nad 5 dnů). Tento závěr lze vysvětlit  
hydrofobními interakcemi mezi alkyly molekuly aminu  
a *N*-alkylamidovými substituenty vázanými na polysa-  
charid. Získané výsledky jsou použitelné pro preparaci  
*N*-alkylpektinamidů s předem určeným stupněm amidace  
(DA).

Táto práce byla podporovaná grantem Grantové Agentury  
České Republiky (GA 525/03/0358).

#### LITERATURA

- Judd P. A., Truswell A. S.: Br. J. Nutr. 53, 409 (1985).
- Hexeberg S., Hexeberg E., Willnmsen N., Berge R. K.: Br. J. Nutr. 71, 181 (1994).
- Sinitsya A., Čopíková J., Prutyjanov V., Skoblyya S., Machovič V.: Carbohydr. Polym. 42, 359 (2000).
- Synitsya A., Čopíková J., Marounek M., Mlčochová P., Blafková P., Tkadlecová M., Havlíček J.: Czech J. Food Sci. 21, 162 (2003).
- Synitsya A., Čopíková J., Marounek M., Mlčochová P., Sihelníková L., Skoblyya S., Havlátová H., Matějka P., Maryška M., Machovič V.: Carbohydr. Polym. 56, 169 (2004).

**Výstaviště Praha 7 - Holešovice**  
**19. - 21. 10. 2005**

# **PRAGO**

# **ANALYTIKA**

**VÝSTAVA DODAVATELSKÉHO ZAJIŠTĚNÍ LABORATOŘÍ SLOUŽÍCÍCH KE ZKOUŠENÍ,  
KONTROLE JAKOSTI, VÝZKUMU A VÝVOJE VE VŠECH SEKTORECH PRŮMYSLU,  
POTRAVINÁŘSTVÍ A OCHRANY ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ**

- **ANALÝZA:**
  - Analytická zařízení
  - Chromatografie
  - Spektroskopie
  - Detektory
  - Mikroskopie
- **MĚŘENÍ A KONTROLA JAKOSTI, ZKOUŠKY**
- **VYBAVENÍ LABORATOŘÍ:** Základní vybavení laboratoří  
Laboratorní datové systémy  
Analýza zpracování obrazu  
Laboratorní technologie a přístroje
- **ČINIDLA, PROVOZNÍ MATERIÁLY, POMŮCKY A SUROVINY**
- **VÝZKUMNÉ A PRŮMYSLOVÉ POLOPROVOZY**
- **INŽENÝRSKÉ SLUŽBY**
- **PORADENSTVÍ**
- **DOPROVODNÝ PROGRAM**

**Garant odborného doprovodného programu:**  
**ČESKÁ SPOLEČNOST CHEMICKÁ**



**INCHEBA PRAHA spol. s r. o.**  
areál Výstaviště Praha, 170 90 Praha 7  
tel.: 220 103 476, fax: 233 378 225  
e-mail: r.krombholzova@incheba.cz, www.incheba.cz

| OBSAH  |     | CONTENTS   |     |
|--|-----|--|-----|
| ÚVODNÍK  | 97  | EDITORIAL  | 97  |
| REFERÁTY   |     | REVIEW ARTICLES  |     |
| Principy a aplikace vícerozměrné NMR spektroskopie tuhého stavu v přírodním izotopovém složení | 99  | Principles and Applications of Multidimensional NMR Spectroscopy of Solid State of Natural Isotope Abundance | 99  |
| J. Brus  |     | J. Brus  |     |
| Chemické projevy laserových jisker   | 109 | Chemical Consequences of Laser-Induced Dielectric Breakdown in Molecular Gases                               | 109 |
| D. Babánková, S. Civiš a L. Juha   |     | D. Babánková, S. Civiš, and L. Juha  |     |
| Strukturální fotografika – nástroj zobrazení a studia anizotropního materiálu                  | 116 | Structural Photographics – A Tool for Imaging and Study of Anisotropic Materials                             | 116 |
| J. Hanzlík   |     | J. Hanzlík   |     |
| Uplatnění elektrochemických metod v certifikačních analýzách referenčních materiálů            | 119 | Application of Electrochemical Methods in Certification Analyses of Reference Materials                      | 119 |
| P. Čížková a P. Mader  |     | P. Čížková and P. Mader  |     |
| Chlorované fenoly a způsob jejich degradace  | 125 | Chlorinated Phenols and Methods of Their Degradation   | 125 |
| L. Vlková a V. Církva  |     | L. Vlková and V. Církva  |     |
| CHEMICKÝ PRŮMYSL   | 131 | CHEMICAL INDUSTRY  | 131 |
| LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY  |     | LABORATORY EQUIPMENT AND METHODS   |     |
| Kombinovaný detektor pro kapilární elektroforézu   | 132 | Combined Detector for Capillary Electrophoresis  | 132 |
| M. Novotný, F. Opekar a I. Jelínek   |     | M. Novotný, F. Opekar, and I. Jelínek  |     |
| Možnosti využití mikrokatalytických pulzních reaktorů k testování katalyzátorů                 | 137 | Utilization of Microcatalytic Pulse Reactors for Testing Catalysts   | 137 |
| P. Zámotný, Z. Bělohav a P. Chládek  |     | P. Zámotný, Z. Bělohav, and P. Chládek   |     |
| Charakterizácia a identifikácia octových baktérií  | 144 | Characterisation and Identification of Acetobacter Bacteria  | 144 |
| M. Krétová a J. Grones   |     | M. Krétová and J. Grones   |     |
| ZPRÁVY   | 149 | NEWS   | 149 |
| LIBLICE 2004 – dodatky   | 150 | LIBLICE 2004 – Supplement  | 150 |

CHEMICKÉ LISTY • ročník/volume 99 (2005), čís./no. 2 • LISTY CHEMICKÉ, roč./vol. 129, ČASOPIS PRO PRŮMYSL CHEMICKÝ, roč./vol. 115 • ISSN 0009-2770, ISSN 1213-7103 (e-verze) • evidenční číslo MK ČR E 321 • Vydává Česká společnost chemická jako časopis Asociace českých chemických společností ve spolupráci s VŠCHT v Praze, s ČSPCH a ÚOCHB AV ČR za finanční podpory Nadace Český literární fond a kolektivních členů ČSCH • IČO 444715 • Published by the Czech Chemical Society • VEDOUCÍ REDAKTOR/EDITOR-IN-CHIEF: B. Kratochvíl • REDAKTOŘI/ EDITORS: J. Barek, Z. Bělohav, P. Drašar, J. Hetflejš, P. Holý, J. Horák, P. Chuchvalec, J. Podešva, P. Rauch, J. Volke; Bulletin: M. Bláhová, I. Valterová; Webové stránky: R. Liboska, P. Zámotný • ZAHRANIČNÍ A OBLASTNÍ REDAKTOŘI/FOREIGN AND REGIONAL EDITORS: F. Švec (USA), V. Větvicka (USA), L. Opletal (Hradec Králové) • KONZULTANT/CONSULTANT: J. Kahovec • VÝKONNÁ REDAKTORKA/EDITORIAL ASSISTANT: R. Rápková • REDAKČNÍ RADA/ADVISORY BOARD: E. Borsig, M. Černá, L. Červený, E. Dibuszová, J. Hanika, Z. Havlas, I. Kadlecová, J. Káš, J. Koubek, T. Mišek, J. Pacák, V. Pačes, O. Paleta, V. Růžicka, I. Stibor, V. Šimánek, R. Zahradník • ADRESA PRO ZASÍLÁNÍ PŘÍSPĚVKŮ/MANUSCRIPTS IN CZECH, SLOVAK OR ENGLISH CAN BE SENT TO: Chemické listy, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel./phone +420 221 082 370, fax +420 222 220 184, e-mail: chem.listy@csvts.cz • INFORMACE OPŘEDPLATNĚM, OBJEDNÁVKY, PRODEJ JEDNOTLIVÝCH ČÍSEL A INZERCE/INFORMATION ADS: Sekretariát ČSCH, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel/fax +420 222 220 184, e-mail: mblahova@csvts.cz, simanek@csvts.cz • PLNÁ VERZE NA INTERNETU/FULL VERSION ON URL: <http://chemicke-listy.vscht.cz> • TISK: České Tiskárny, s.r.o., Ráby 14, 533 52 Staré Hradiště; SAZBA, ZLOM: ČSCH, Chemické listy • Copyright © 2005 Chemické listy/Česká společnost chemická • Cena výtisku 147 Kč, roční plně předplatné 2005 (12 čísel) 1512 Kč, individuální členské předplatné pro členy ČSCH 756 Kč. Roční předplatné ve Slovenské republice 80 EUR (doručování via SCHS), individuální členské předplatné pro členy ČSCH 60 EUR (doručování via SCHS), 225 EUR (individuální doručování) • DISTRIBUTION ABROAD: KUBON & SAGNER, POB 34 01 08, D-80328 Munich, FRG; Annual subscription for 2005 (12 issues) 225 EUR • This journal has been registered with the Copyright Clearance Center, 2322 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923, USA, where the consent and conditions can be obtained for copying the articles for personal or internal use • Pokyny pro autory najdete v čísle 1/2002 a na internetu, zkratky časopisů v čísle 10/97 na str. 911 • Chemické listy obsahující Bulletin jsou zasílány zdarma všem individuálním a kolektivním členům ČSCH a ČSPCH v ČR i zahraničí, do všech relevantních knihoven v ČR a významným představitelům české chemie a chemického průmyslu; v rámci dohod o spolupráci i členům dalších odborných společností • Dáno do tisku 4.2.2005.