

Spokojené prožití  
vánočních svátků  
a v novém roce  
pevné zdraví,  
mnoho pracovních  
i osobních úspěchů  
všem svým čtenářům  
přeje redakce

PF 2011

## **Devadesát let Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy**

*Brzy poté, co byl na počátku dvacátého století dostavěn v Praze univerzitní areál na Albertově, se objevily první návrhy na zřízení přírodovědecké fakulty. Fakulta však vznikla až po vzniku samostatné Československé republiky jako pátá fakulta Univerzity Karlovy. Bylo to právě před devadesáti lety a naši zřizovací listinou je Nařízení vlády 392/1920 Sb. republiky Československé ze dne 24. června 1920 o rozdělení filosofických fakult obou pražských universit (jednalo se o českou a německou univerzitu). Tak vznikla samostatná Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy. V prostorách Albertova působilo mnoho vynikajících osobností, takových, jako Jan Svatopluk Presl, Albert Einstein, Bohuslav Brauner, Aleš Hrdlička. Ale pro Přírodovědeckou fakultu a pro chemii v naší zemi má zvláštní význam to, že československá elektrochemická škola vznikla právě v Chemickém ústavu Přírodovědecké fakulty, když zde po mnoho let působil se svými spolupracovníky Jaroslav Heyrovský, laureát Nobelovy ceny za polarografii.*

*Na Albertově se několikrát v dějinách křížily cesty, které rozhodovaly o vývoji našeho státu. Vzpomenu alespoň dvě z nich. První z událostí byl pohřeb Jana Opletala na Albertově 15. listopadu 1939 provázený studentskou manifestací, které se zúčastnily tisíce lidí. Po dvou dnech, v noci na 17. listopad byly gestapem a jednotkami SS v obsazeny vysokoškolské budovy a studentské koleje. Devět studentských vůdců bylo popraveno, 1200 studentů zatčeno a odvezeno do koncentračních táborů. Vysokoškolský život v naší zemi se na šest následujících let téměř zastavil. A o padesát let později se na Albertově znovu shromáždila studentská demonstrace, tentokrát proti komunistické nadvládě, a vydala se směrem na Národní třídu. Brutální rozehnání této demonstrace započalo v naší zemi sametovou revoluci a zařadilo nás opět mezi demokratické evropské země.*

*A jak jsme na tom dnes, ve svých devadesátinách? Přírodovědecká fakulta nyní poskytuje vysokoškolské vzdělání v oblasti věd biologických, geografických, geologických, chemických a environmentálních. Vzdělávání je třístupňové – bakalářské, navazující magisterské a doktorské. Bakalářské a magisterské studium je jed-*

*nak jednooborové, zaměřené především na výchovu budoucích vědeckých a odborných pracovníků v daném oboru schopných samostatně tvůrčí činnosti a rovněž víceoborové, probíhající ve spolupráci s ostatními fakultami Univerzity Karlovy. Výuka probíhá podle kreditního systému European Credit Transfer System (ECTS). Absolventi fakulty získávají kromě diplomu také celoevropsky uznávaný Dodatek k diplomu (Diploma Supplement) v anglickém jazyce. Navíc, chemické obory fakulty udělují prestižní tituly Chemistry Eurobachelor® a Chemistry Euomaster®, čímž se fakulta zařazuje mezi přední evropské vzdělávací instituce zajišťující vzájemnou přenositelnost vzdělávání v chemii. Spojení univerzitní výuky a vědeckého výzkumu je silnou stránkou fakulty, která má akreditováno mnoho oborů a programů ve vyšších stupních studia – magisterském a doktorském. Celkem na fakultě studuje 5100 studentů, z nich více než jedna čtvrtina jsou studenti doktorského studia. Na kvalitu doktorského studia klade fakulta velký důraz, proto většina dizertačních prací je postavena na publikacích v mezinárodních impaktovaných časopisech, často špičkových. Fakulta klade důraz na rozšiřování studentské mobility s cílem umožnit studentům, aby strávili během studia jeden až dva semestry na zahraniční vysoké škole. Studenti k tomu využívají možnosti programu Erasmus, mezifakultních a meziuniverzitních dohod, podporu Fondu mobility Univerzity Karlovy a řady dalších programů. V hodnocení výsledků výzkumu a vývoje, které je každoročně uveřejňováno Radou pro výzkum a vývoj, se Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy trvale řadí na čelní místa mezi fakultami všech vysokých škol tohoto státu.*

*Devadesát let je v lidském životě požehnaný věk, v životě fakulty je to mládí. Chceme být fakultou otevřenou a vstřícnou, proto přeji všem chemikům a čtenářům Chemických listů, aby se jim s naší fakultou spolupracovalo co nejlépe. Ze strany fakulty pro to učiníme vše.*

*Bohuslav Gaš,  
děkan Přírodovědecké fakulty  
Univerzity Karlovy v Praze*

## 90 let Přírodovědecké fakulty UK v Praze

*Už léta si myslím, že je škoda, opravdu škoda, přehlížet výrazná výročí lidí i institucí. Ta výročí totiž, myslím si, představují stacionární body na hyperploše lidí, jakož i institucí. Devadesátiny jsou dobré výročí. Ovšem již před rokem 1920 probíhala studia a přírodovědné přednášky na Univerzitě Karlově, avšak dělo se to v rámci Fakulty filozofické.*

*S velkou chutí píši toto blahopřání z více důvodů; zmíním dva obecnější a jeden zcela osobní. To, nač hledím s respektem už hodně desetiletí, je kvalita pozoruhodně vysokého procenta absolventů. Jsem nepochybně především ovlivněn poměry na chemii, avšak jako letitý člen Vědecké rady fakulty, jsem měl dosti příležitostí sledovat poměry ve větší šíři. Myslím, že zmíněná kvalita absolventů je dána odbornou a pedagogickou kvalitou, jakož i entuziasmem mnoha učitelů fakulty. To je cosi, co zasluhuje uznání o to větší, že po mnoho let se výuka odehrála v prostorách málo vyhovujících, velice skromně vybavených. To se změnilo postupnou přestavbou a renovací, která však trvala dlouho a zatěžovala učitele i studenty někdy věru nemilosrdně. Navíc mám pocit, že ta kvalita, které si cením, zůstává zachována v době, kdy mnozí zasvěcení pozorovatelé soudí, že úroveň některých škol v nejednom směru klesá.*

*Druhý důvod je spjat s badatelstvím. Po léta jsem si přál, aby vybavení fakulty vzrostlo. Už řadu roků se to tak děje a je to dobře patrné na úrovni o objemu publikova-*

*ných prací. Kéž fakulta všemi silami usiluje o udržení růstu vybavení, ač, jak všichni víme, přes všeliká politická prohlášení, dnešní doba vzdělávání, moderní výuce a vědě příliš nepřeje.*

*Důvod poslední je zcela osobní. V roce 1952 jsem odcházel ze své Alma mater s posudkem velice neblahým, který nedovoľoval vstup na jakoukoli školu. Navzdory tomu mě šéf organické chemie na Albertově, docent Alois Vystrčil, pozval k uspořádání kurzu o teorii chemické vazby v organické chemii. Bylo to v roce 1959, a tak to byl, domnívám se, jeden z prvních, ne-li první kurz vůbec s takovou (tenkrát ne všeobecně s nadšením přijímanou) tematikou v Evropě. V první řadě posluchárny sedělo při první přednášce několik ctihodných chemiků, mimo jiné prof. O. Wichterle (tenkrát šestačtyřicetiletý), horlivý podporovatel netradičních postupů. A za pár let, myslím, že k tomu opět přispěl Alois Vystrčil, PČF UK mi učinila kavalírskou nabídku, abych předložil habilitaci. Jak bych té škole a mnoha učitelům chemie nebyl za to po celý život vděčný!*

**Šťastné vykročení ke stému výročí!**

Rudolf Zahradník

## PORÉZNÍ KŘEMÍK – MODERNÍ NANOSTRUKTURNÍ MATERIÁL

JURAJ DIAN<sup>a</sup> a IVAN JELÍNEK<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Univerzita Karlova v Praze, Matematicko-fyzikální fakulta, Katedra chemické fyziky a optiky, Ke Karlovu 3, 121 16 Praha 2, <sup>b</sup> Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra analytické chemie, Hlavova 8, 128 40 Praha 2

ijelinek@natur.cuni.cz, dian@karlov.mff.cuni.cz

Došlo 8.7.09, přijato 18.2.10.

Klíčová slova: porézní křemík, nanokrystalický křemík, kvantový rozměrový jev, fotoluminiscence, funkcionalizace křemíkových materiálů, chemosenzory, molekulové rozpoznávání, biokompatibilita

### Obsah

1. Úvod
2. Příprava porézního křemíku
3. Viditelná fotoluminiscence porézního křemíku
4. Charakterizace povrchu porézního křemíku
  - 4.1. Porozita
  - 4.2. Morfologie porézní vrstvy
  - 4.3. Velikost nanokrystalitů
  - 4.4. Chemické složení povrchu porézního křemíku
5. Funkcionalizace povrchu porézního křemíku
  - 5.1. Oxidace
  - 5.2. Halogenace
  - 5.3. Vazba uhlíku na křemík
6. Využití porézního křemíku
  - 6.1. Optoelektronické aplikace
  - 6.2. Senzory chemických látek
  - 6.3. Aplikace v medicíně

### 1. Úvod

Porézní křemík je materiál známý od 50. let dvacátého století, kdy začala éra mikroelektronických součástek na bázi křemíku<sup>1</sup>. Zprvu představoval pouze vedlejší produkt na cestě k ultračistému křemíku, později se využíval jako izolační vrstva v integrovaných obvodech<sup>2</sup>. Důležitý mezník v zájmu o porézní křemík nastal začátkem 90. let, kdy byla pozorována intenzivní viditelná fotoluminiscence při pokojové teplotě. Porézní křemík byl prvním nanostrukturálním materiálem na bázi křemíku, u něhož byl potvrzen projev kvantového rozměrového jevu<sup>3</sup>, který způsobuje modrý posuv optických přechodů. Posuv absorpce a luminescence z infračervené do viditelné oblasti zásadně

rozšiřuje aplikační možnosti křemíku jak pro optoelektroniku, tak i další oblasti, zejména optické chemosenzory. Vysvětlení fyzikálních vlastností porézního křemíku kvantovými jevy v nanostrukturálních částicích bylo v krátké době doplněno celou řadou dalších jevů a mechanismů. Nejdůležitější z nich byl vliv povrchových stavů na výsledné vlastnosti porézního křemíku<sup>4,5</sup>. Porézní křemík samotný má obrovský vnitřní povrch (až 600 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>) a povrchové stavy hrají zásadní roli v závislosti fyzikálních vlastností tohoto materiálu na typu chemických vazeb a přítomnosti chemických látek. V posledních dvaceti letech byl porézní křemík studovaný prakticky všemi dostupnými experimentálními technikami<sup>6–8</sup>, nicméně mnoho fyzikálních a chemických vlastností ještě nebylo spolehlivě vysvětleno.

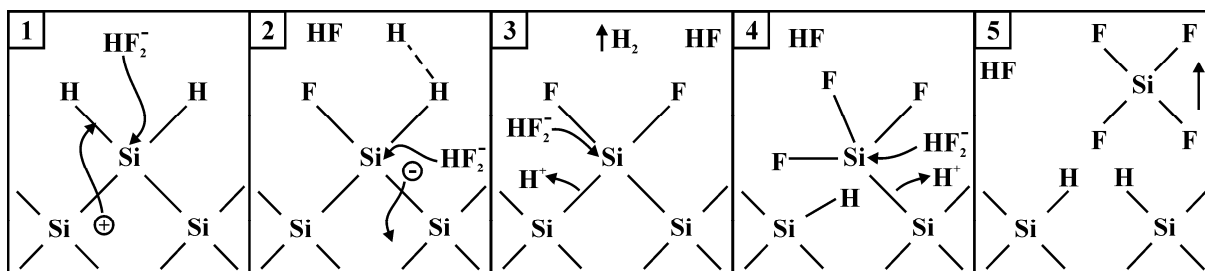
Článek navazuje na přehled o materiálech na bázi křemíku vykazujících viditelnou fotoluminiscenci<sup>9</sup>, doplňuje a rozšiřuje přehledy jiných typů nanostrukturálních materiálů<sup>10–12</sup> a jejich aplikacích<sup>13,14</sup> publikovaných v Chemických listech.

### 2. Příprava porézního křemíku

Porézní křemík se nejčastěji připravuje elektrochemickým leptáním krystalického křemíku (vodivost *p*- nebo *n*-typu, orientace krystalových rovin zpravidla <100> nebo <111>). První modely elektrochemického leptání krystalického křemíku v HF předpokládaly vznik povrchu pokrytého vazbami<sup>15</sup> Si-F. Studium infračervených spekter porézního křemíku prokázalo výhradní tvorbu vazeb<sup>16</sup> Si-H. Srovnáme-li hodnoty energie vazeb Si-F (6 eV) a Si-H (3,5 eV), je zřejmé, že tvorba vazby Si-F má za následek odstranění dané skupiny atomů z povrchu. Úplný mechanismus elektrochemického leptání křemíku kyselinou fluorovodíkovou není dosud znám, nejpřesnější popis umožňuje Turnerův<sup>17</sup> model a model Lehmana a Göseleho<sup>18</sup>. Oba modely vycházejí z faktu, že k procesu leptání je nezbytná přítomnost fluoridových iontů a kladných nositelů náboje – děr (h<sup>+</sup>) a že během rozpouštění se vyvíjí vodík. Model Lehmana a Göseleho předpokládá oxidaci povrchových vazeb Si zachycením díry a následné odtržení elektronu, což vede k procesu leptání křemíku, při kterém dochází k výměně dvou nosičů náboje (obr. 1).

### 3. Viditelná fotoluminiscence porézního křemíku

Intenzivní viditelná fotoluminiscence porézního křemíku je pozorovatelná již při pokojové teplotě. Důvody posunu luminescence z infračervené do viditelné oblasti

Obr. 1. Model rozpouštěcího mechanismu křemíku  $F^-$  ionty v kyselém prostředí<sup>18</sup>

(ve srovnání s krystalickým křemíkem) a dramatický nárůst kvantové účinnosti jsou vysvětleny v práci<sup>9</sup>. Fotoluminiscenci porézního křemíku lze pozorovat od blízké infračervené oblasti až do oblasti ultrafialové. Emise v tak širokém spektrálním intervalu je dána existencí fotoluminiscenčních pásů odlišného původu<sup>19</sup>. Červený fotoluminiscenční pás, který byl poprvé pozorován u porézního křemíku v roce 1990 Canhamem<sup>3</sup>, se nazývá *S*-pás. Spektrální pozice fotoluminiscence je zhruba v rozmezí 560–860 nm (viz obr. 2), dohasínání fotoluminiscence je relativně pomalé – desítky až stovky  $\mu$ s při pokojové teplotě. Tomuto pásu je věnována většina studií zabývajících se fotoluminiscenčními vlastnostmi porézního křemíku<sup>8</sup> a je charakteristický pro čerstvě připravený porézní křemík<sup>20</sup> a porézní křemík s povrchem chemicky nebo elektrochemicky modifikovaným při pokojové popř. zvýšené teplotě<sup>21</sup>. Původně navržené mechanismy původu fotoluminiscence *S*-pásu v křemíkových strukturách – kvantový rozměrový jev a vliv povrchových stavů<sup>22</sup> – byly rozšířené o rekombinaci

v siloxanových derivátech<sup>23</sup>, vliv oligosilanových řetězců v amorfni struktuře<sup>24</sup> popř. mezi Si nanokrystaly<sup>25</sup>.

V současné době lze považovat za prokázaný mechanismus, kdy k absorpci budícího záření dochází v nanokrystalech Si a k fotoluminiscenci dochází (při pokojových teplotách) zejména z povrchových stavů nanokrystalů<sup>26</sup>.

Modrý fotoluminiscenční *F*-pás v oblasti 400–500 nm s rychlou dobou dohasínání ( $\tau \sim 1$  ns) byl pozorován na vhodně zoxidovaných vzorcích porézního křemíku<sup>27–29</sup>. Za nejpravděpodobnější příčinu modré fotoluminiscence se považují některé defekty v  $SiO_2$  na povrchu porézního křemíku, popř. rekombinace na molekulových centrech adsorbovaných na těchto defektech<sup>30</sup>. Stejný mechanismus se předpokládá u fotoluminiscence v UV oblasti, která byla pozorována u částečně oxidovaného PS (cit.<sup>31</sup>).

#### 4. Charakterizace povrchu porézního křemíku

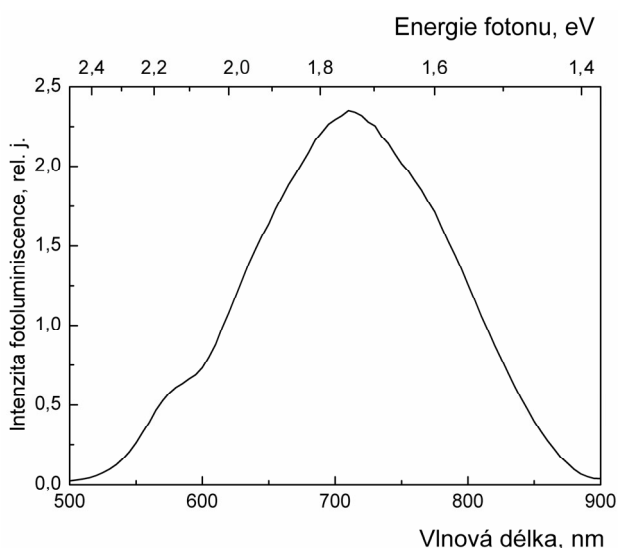
Fyzikální a chemické vlastnosti vrstvy porézního křemíku závisí na celé řadě parametrů, z nichž nejdůležitější jsou porozita, velikost, tvar a směr pórů vzhledem ke krystalografické orientaci křemíkového substrátu a tloušťka. Uvedené parametry závisí na výchozím materiálu a na podmínkách přípravy: krystalografické orientaci křemíkového substrátu, koncentraci příměsového prvku, proudové hustotě, době leptání a koncentraci fluoridových iontů.

##### 4.1. Porozita

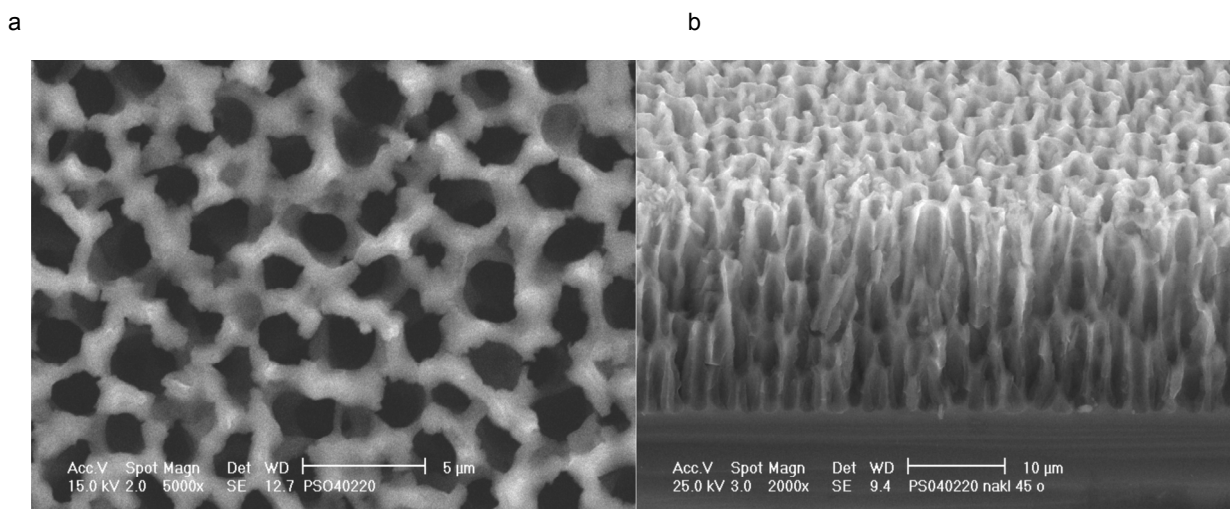
Porozita udává procentuální podíl odleptaného křemíku v porézní vrstvě. Porozita se většinou stanovuje gravimetrickou metodou<sup>32</sup>, při tomto postupu lze současně stanovit tloušťku vrstvy. Vysocí porézní vrstvy dosahují porozity vyšší než 80 %. Alternativní způsob stanovení porozity představuje přímé stanovení porozimetrem<sup>33</sup> nebo elipsometrií<sup>34</sup>.

##### 4.2. Morfologie porézní vrstvy

V závislosti na podmínkách přípravy lze připravit makroporézní křemík (velikost pórů  $d > 500$  nm), mesopo-



Obr. 2. Fotoluminiscenční spektrum porézního křemíku. Excitační vlnová délka 375 nm



Obr. 3. Morfologie makroporézního křemíku. Pohled rastrovacího elektronového mikroskopu shora (a) a z řezu (b). Vzorky byly připraveny z krystalického Si *p*-typu, orientace <100> (cit.<sup>36</sup>)

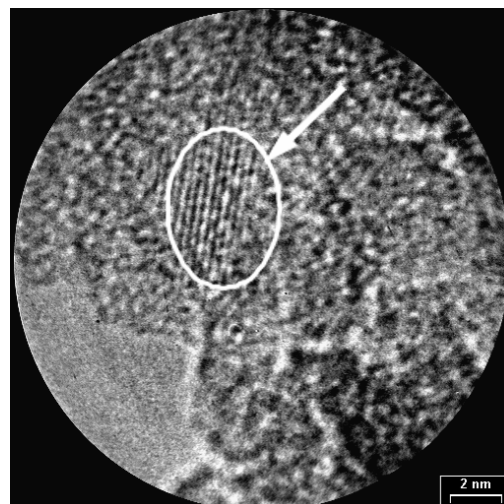
rézní křemík ( $10 \text{ nm} < d < 500 \text{ nm}$ ) a mikroporézní křemík ( $d < 10 \text{ nm}$ ). Při vzniku porézní vrstvy křemíku závisí morfologie pórů na vlastnostech použitého materiálu – hustotě dopujícího prvku či krystalografické orientaci. Např. u křemíku s krystalografickou orientací (100) vznikají póry se čtvercovým průřezem zatímco na křemíku (111) póry s trojúhelníkovitým průřezem<sup>35</sup>. Velikost pórů je určena zejména složením elektrolytu a proudovou hustotou. Morfologie povrchu významně ovlivňuje fyzikálně-chemické vlastnosti a hraje významnou roli v aplikacích. Na obr. 3 je snímek makroporézního křemíku pořízený rastrovacím elektronovým mikroskopem (SEM).

#### 4.3. Velikost nanokrystalitů

Fyzikální vlastnosti porézního křemíku odlišuje od vlastností krystalického křemíku přítomnost nanostrukturálních útvarů. Hlavní metody, které umožňují studovat křemíkové nanokrystalitů, jsou Ramanova spektroskopie, rentgenová a elektronová difrakce. Přímý způsob zobrazení představují metody vysokorozlišené transmisní elektronové mikroskopie (HR TEM) a mikroskopie atomových sil (AFM). Je ovšem nutné zdůraznit jeden zásadní problém současných nanotechnologií: z pozorování jednoho (nebo několika) nanokrystalů nelze automaticky usuzovat na vlastnosti celého vzorku. Na obr. 4 je snímek HR TEM křemíkového nanokrystalu na řezu vzorku porézního křemíku.

#### 4.4. Chemické složení povrchu porézního křemíku

Čerstvě připravený porézní křemík obsahuje zejména vazby Si-H (viz kap. 2). V průběhu skladování na vzduchu dochází k pomalé oxidaci a adsorbci organických látek z ovzduší. Tyto jevy mají zásadní vliv na fyzikální vlast-



Obr. 4. Snímek křemíkového nanokrystalu získaného pomocí vysokorozlišeného transmisního elektronového mikroskopu (HR TEM), oblast uspořádaných rovin představuje jednotlivý nanokrystal

nosti porézního křemíku, které jsou určeny přítomností nanokrystalitů. Základní metodou pro stanovení chemického složení porézního křemíku je infračervená spektroskopie. Z polohy charakteristických vibračních pásů (nejčastěji Si-H, Si-O, C-H a C=O) lze identifikovat typ vazeb na povrchu porézního křemíku a z intenzit pásů lze přibližně odhadnout zastoupení funkčních skupin. Relativní jednoduchost měření činí z infračervené spektroskopie základní nástroj při sledování funkcionalizace povrchu vhodnými chemickými látkami.

## 5. Funkcionalizace povrchu porézního křemíku

Funkcionalizací povrchu porézního křemíku lze ovlivňovat jeho optické vlastnosti – luminiscenční vlnovou délku, intenzitu a stabilitu luminiscence. Tato modifikace má silný vliv na elektronické vlastnosti využitelné v polovodičových technologiích nebo senzorové vlastnosti – citlivost, selektivitu či operační stabilitu.

### 5.1. Oxidace

Oxidace se provádí buď kyslíkem při vysokých teplotách nebo použitím vhodného oxidačního činidla za normálních teplot. Tepelná oxidace je standardní CMOS (Complimentary Metal Oxide Semiconductor) proces a provádí se při teplotách nad 800 °C. Porézní křemík s vrstvou termálního oxidu je vysoce stabilní a používá se pro optoelektronické aplikace. Vysoce oxidovaný povrch porézního křemíku fotoluminiscuje v modré oblasti viditelné části spektra<sup>37</sup>. Pro zachování fyzikálních vlastností (červená fotoluminiscence, velikost vnitřního povrchu) se porézní křemík oxiduje za normálních teplot chemickými činidly jako je peroxid vodíku nebo ozon<sup>38</sup>. Takto upravený povrch lze pak dále funkcionalizovat silanizačními reakcemi.

### 5.2. Halogenace

Působením halogenů  $X_2$  na povrch křemíku dochází ke štěpení Si–Si vazeb a vzniku vazby Si–X (cit.<sup>39</sup>). Proces halogenace je prostorově selektivnější než termální oxidace, modifikuje se pouze vrchní vrstva křemíkových atomů. Halogenovaný povrch křemíku je značně reaktivní a zpravidla se používá jako mezistupeň pro další reakce – např. reakci s alkoholy vedoucí k tvorbě alkoxidových vazeb<sup>40</sup>. Povrch s vazbami Si–Cl může reagovat např. s Grignardovými či alkyllithiovými činidly. Výsledkem je navázání alkylových skupin na povrch křemíku<sup>41</sup>, které významně zpomalují jeho nežádoucí oxidaci.

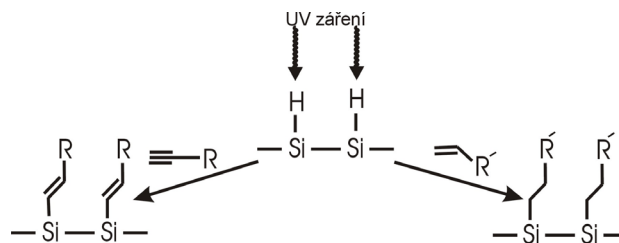
### 5.3. Vazba uhlíku na křemík

Vazby Si–O nebo Si–Cl jsou pevnější než vazby Si–C. Z hlediska dlouhodobé stability jsou ovšem vazby Si–C často výhodnější, jelikož nepodléhají hydrolyze. Z aplikačního hlediska jsou reakce náhrady Si–H vazeb vazbami Si–C velmi významné, poněvadž lze modifikovat povrch porézního křemíku navázáním organické sloučeniny, která vhodným způsobem mění jeho vlastnosti. Reakce vedoucí ke vzniku vazby Si–C na povrchu porézního křemíku lze dosáhnout celou řadou způsobů:

1. *Radikálově iniciovaná reakce.* Reakce probíhá po iniciaci diacylperoxidem, z něhož se pyrolýzou při teplotě 90–100 °C generuje směs radikálů, jež zapřičiní vznik  $Si^{\bullet}$  radikálů na povrchu. Takto nestálý po-

vrch reaguje s alkylovými radikály za vzniku příslušných vazeb. V průběhu jedné hodiny při 100 °C je možno vytvořit monomolekulární vrstvu oktadecenových skupin<sup>42</sup>.

2. *Fotochemicky indukovaná hydrosilylace.* Organické sloučeniny s koncovou dvojnou nebo trojnou vazbou reagují s povrchem porézního křemíku zakončeného vazbami Si–H. V podstatě jde o adici vazby Si–H na vazbu C=C nebo C≡C. Reakce lze dosáhnout fotochemicky UV světlem<sup>43</sup>. Ultrafialové záření způsobuje homolytické štěpení vazeb Si–H za laboratorní teploty. Schéma reakce je znázorněno na obr. 5. K hydrosilylační reakci dochází v případě porézního křemíku (na rozdíl od křemíku krystalického) i při ozáření viditelným světlem. Reakce probíhá jiným mechanismem, malá energie záření nedovoluje homolytické štěpení vazby Si–H. Reakci v tomto případě iniciuje vznik excitonů v nanokrystalech křemíku<sup>44</sup>.
3. *Termicky indukovaná hydrosilylace.* Vazby Si–H na povrchu křemíku se za teploty vyšší než 150 °C samy, bez přídavku radikálového iniciátoru, homolyticky štěpí na  $Si^{\bullet}$  a  $H^{\bullet}$  (cit.<sup>45</sup>). Na aktivovaný povrch lze navázat např. 1-dodecen až 1-oktadecen nebo fulleren  $C_{60}$ . U alkylnů pravděpodobně dojde k reakci trojné vazby s dvěma blízkými atomy Si a vytvoří se uhlíkový můstek.
4. *Katalyticky indukovaná hydrosilylace.* Reakce nenasycených sloučenin s hydrogenovaným povrchem porézního křemíku lze katalyzovat pomocí organokovových sloučenin jako např.  $RhCl(PPh_3)_3$ ,  $PdCl_2(Pet_3)_2$  (cit.<sup>46</sup>), nebo Lewisovou kyselinou (např.  $EtAlCl_2$ )<sup>47</sup>.
5. *Reakce s Grignardovými činidly.* Vazba uhlíku na křemík může vzniknout reakcí s Grignardovými činidly<sup>48</sup> nebo alkyllithiovými sloučeninami<sup>49</sup>. Reakce je prováděna s halogenovaným povrchem porézního křemíku.
6. *Elektrochemická derivatizace.* Hydrogenovaný povrch porézního křemíku lze derivatizovat elektrochemicky. Křemík je do systému zapojen jako pracovní elektroda, může být katodou i anodou, podle požadovaného produktu. Jako činidla je možno použít např. alkylbromidy, alkyljodidy<sup>50</sup>, nebo alkyyny<sup>51</sup>.



Obr. 5. Hydrosilylace povrchu porézního křemíku UV zářením

## 6. Využití porézního křemíku

### 6.1. Optoelektronické aplikace

Optoelektronické prvky, které generují světelné záření, jsou zatím na bázi III-V polovodičů jako např. GaAs, AlAs, GaAl<sub>x</sub>As<sub>1-x</sub> nebo GaN. Problém integrace mikroelektronických prvků, které jsou na bázi Si, a optoelektronických prvků představuje jejich vzájemná materiálová nekompatibilita. Jednou z cest, jak odstranit tento problém, je vývoj materiálů na bázi křemíku, které by vykazovaly dostatečně intenzivní elektroluminiscenci. Intenzivní viditelná fotoluminiscence porézního křemíku za pokojové teploty je pouze základním předpokladem pro jeho účinnou elektroluminiscenci.

První elektroluminiscence porézního křemíku byla pozorována v kapalně fázi, kdy je kontakt tvořen samotným elektrolytem – nejčastěji peroxodisíranem. Tento typ kontaktu je vzhledem k vnitřnímu povrchu materiálu velmi účinný, elektroluminiscenci lze pozorovat při nízkém katodickém potenciálu (od -1 V do -1,8 V) s relativně vysokým kvantovým výtěžkem (0,1–1 %). Spektrum elektroluminiscence se posouvá s rostoucím katodickým potenciálem do modré oblasti<sup>52</sup>.

Pro aplikace je důležitější elektroluminiscenční struktura s pevným kontaktem. Společným rysem je *p-n* kontakt realizovaný buď rozhraním krystalický křemík/porézní křemík nebo se nejdříve vytvoří (nejčastěji dopováním) *p-n* přechod, který se posléze anodicky vyleptá a získá se porézní struktura s *p-n* přechodem. Byly realizovány různé typy kontaktů – kovový, ITO (Indium Tin Oxide), vodivý polymer. Kvantová účinnost elektroluminiscence není zpravidla lepší než 10<sup>-3</sup>, operační doba života bez další stabilizace struktury nedosahuje více než několik hodin. Nejlepší operační stability se dosáhlo termální oxidací vrstvy porézního křemíku<sup>53</sup>.

Využití širší škály optoelektronických prvků vyžaduje od křemíkových struktur realizaci křemíkového laseru. Jedním ze základních předpokladů použití libovolného materiálu pro konstrukci laseru je pozorování optického zisku („negativní“ absorpce). První publikovaná práce o optickém zisku na křemíkovém materiálu pochází z roku 2000 (cit.<sup>54</sup>) a vyvolala řadu rozporných reakcí. Odhadovaná hodnota optického zisku křemíkových nanokrystalů 10 až 100 cm<sup>-1</sup> je totiž na hranici měřitelnosti a díky tomu je ovlivněna nejrůznějšími artefakty<sup>55</sup>. Další šanci pro optický zisk jsou extrémně malé křemíkové nanokrystal, které lumineskují v modré oblasti spektra<sup>56</sup>. Optický zisk nadále zůstává intenzivně studovanou optoelektronickou problematikou v křemíkových nanostrukturách<sup>57</sup>.

### 6.2. Senzory chemických látek

Závislost fyzikálních vlastností porézního křemíku na chemickém složení okolí, která v současnosti představuje hlavní problém pro optoelektronické aplikace, je zásadní výhodou pro jeho využití jako senzoru chemických látek. Sensorová odezva porézního křemíku závisí na skupenství

detegovaných látek<sup>58</sup>. Při detekci v kapalně fázi je koncentrace sledovaných látek v porézní matici určena jejich koncentrací v roztoku. Při detekci v plynně fázi je primárním dějem pronikání detegovaných látek do porézní matrice. Vzhledem k rozměrům pórů a distribuci jejich velikosti je koncentrace látek určena jevem kapilární kondenzace a v termodynamické rovnováze je koncentrace v porézní matici zpravidla vyšší než v plynně fázi. Mechanismus sensorové odezvy v plynně fázi je tedy složitější než mechanismus odezvy ve fázi kapalně.

Pro zvýšení operační stability a zlepšení selektivity sensorové odezvy se povrch porézního křemíku modifikuje nejrůznějšími způsoby – chemickou modifikací povrchu (viz kap. 5.4), fyzikální adsorpcí vhodných látek (pro detekci v plynně fázi)<sup>59,60</sup> nebo elektrochemickou depozicí<sup>61,62</sup>. Sensorová odezva je pro látky, které mohou interagovat s čidly použitými pro povrchovou modifikaci, zpravidla odlišná od odezvy standardního porézního křemíku. Vzhledem k širokým možnostem modifikace povrchu porézního křemíku lze konstruovat sensorická pole s různě modifikovanými prvky, které lze používat jako elektronické nosy nebo jazyky pro plynnou resp. kapalnou fázi. Současné senzory chemických látek na bázi porézního křemíku lze rozdělit na (1) kapacitní, (2) vodivostní, (3) luminiscenční a (4) interferenční.

Kapacitní senzory využívají pro detekci chemických látek změnu efektivní permitivity porézního filmu. Vyplněním pórů sledovanou látkou dochází k nárůstu kapacity vrstvy porézního křemíku. Kapacitní senzory byly realizovány pro měření vlhkosti<sup>63</sup>, pH<sup>64</sup>, organických<sup>65</sup> a biologických<sup>66</sup> látek.

Vodivostní senzory snímají změnu vodivosti porézní vrstvy v přítomnosti chemických látek a jsou výsledkem velice komplexních pochodů. Primárním jevem určujícím změnu vodivosti je adsorpce molekul na povrchu. Důsledkem jsou změny v elektronové konfiguraci povrchových stavů křemíkových nanokrystalů, čímž je ovlivněna koncentrace nosičů náboje a současně se mění energetické stavy povrchových stavů. Vodivostní senzory byly realizovány pro měření vlhkosti<sup>67</sup>, organických látek<sup>68,69</sup> a NO<sub>x</sub> (cit.<sup>70</sup>).

Luminiscenční senzory byly studovány nejpodrobněji. Fotoluminiscence čerstvě připraveného porézního křemíku v přítomnosti chemických látek klesá – mluvíme o zhášení luminiscence. Míra zhášení závisí na koncentraci látek, jejich schopnosti pronikat do porézní matrice a na některých fyzikálních parametrech (zejména na dielektrické konstantě). Podle typu interakce rozlišujeme reverzibilní a ireverzibilní senzory<sup>71</sup>. V prvním případě nedochází primárně k interakci studované látky s povrchem porézního křemíku. Nejčastěji je mechanismus zhášení určen jevem dielektrického zhášení excitonu, zhášení schopnost závisí (v kapalně fázi) primárně na dielektrické konstantě detegované látky<sup>72</sup>, někdy souvisí s paramagnetismem detegované látky (kyslík)<sup>73</sup>. U povrchově modifikovaného porézního křemíku je dalším mechanismem změny fotoluminiscence přenos energie nebo náboje<sup>74</sup>. Reverzibilní zhášení bylo pozorováno pro většinu organických látek, které chemicky nereagují s povrchem porézního křemíku. Ireverzibilní



bilní sensorová odezva je nejčastěji spojena s chemickou reakcí sledovaných látek s povrchem porézního křemíku, nejčastěji dochází k částečné oxidaci povrchu, např. při detekci  $\text{NO}_x$  či  $\text{O}_2$  (cit. <sup>75</sup>).

Interferometrická detekce chemických látek využívá možnosti přípravy dobře definovaných vrstev porézního křemíku. Na takto definovaných vrstvách dochází k vzniku interferenčních proužků, jejich vzdálenost maxim je určena tloušťkou vrstvy a jejím indexem lomu. U tenkých vrstev porézního křemíku ( $\sim 1 \mu\text{m}$ ) ponořených do roztoku chemických látek je efektivní index lomu silně závislý na indexu lomu kapalného prostředí. Interferometrická detekce je velice citlivá, v kapalně fázi umožňuje detekci již při koncentracích  $10^{-12}$  M (cit. <sup>76</sup>).

### 6.3. Aplikace v medicíně

Porézní křemík se vyznačuje jedinečnými vlastnostmi rovněž z hlediska svého využití v medicíně. První aplikace začaly být studovány po zásadním zjištění, že porézní křemík je – na rozdíl od křemíku krystalického – jak biokompatibilní, tak biodegradabilní<sup>77–79</sup>. Porézní struktura a schopnost nejenom chemicky, ale i fyzikálně vázat různé typy molekul předurčuje využití porézního křemíku jako nosiče biologicky významných látek. Hlavním faktorem určujícím sílu této vazby je morfologie porézního křemíku. Vhodnou modifikací přípravy výchozího materiálu lze dosáhnout přednostní adsorpce a resorpce molekul určité velikosti. Podrobněji byla studována závislost adsorpce na morfologii pro lidský sérový albumin, fibrinogen<sup>80,81</sup> a glukosidasu<sup>82</sup>.

Biokompatibilita porézního křemíku umožňuje jeho využití jako podpůrné matrice pro kompozitní materiály určené pro náhradu tkání. Byly prováděny předklinické testy porézního křemíku s povrchem upraveným hydroxyapatitem pro stimulaci růstu kostní tkáně<sup>83</sup>. Kompozitní materiály na bázi polykaprolaktonu a porézního křemíku umožňují současně řízení pevnosti materiálu, uvolňování vhodných látek a rychlost resorpce v tkáních<sup>84</sup>.

Již zmíněná biokompatibilita porézního křemíku přímo provokuje k propojení pevnolátkové matrice a nervového systému. Hlavním kritériem úspěšnosti propojení porézního křemíku s nervovým systémem je opět morfologie. Bylo prokázáno, že nervové vlákna fungují na mesoporézním křemíku a poskytují dostatečný signál v přítomnosti vhodných iontů<sup>85</sup>. V této souvislosti nabývají na významu fluorescenční barviva, jejichž parametry fluorescence závisí na elektrickém poli.

V současné době je porézní křemík dodáván pro medicínu pod obchodním názvem BioSilicon<sup>TM</sup>. Hlavní výhody jeho využití v medicíně lze shrnout následovně: (1) jde o čisté a dobře kontrolovatelné prostředí pro vysoce účinné dávkování a uvolňování léčiv, (2) výroba a mikroobrábění (micromachining) krystalického křemíku byly prokázány čtyřicetiletou praxí v elektronickém průmyslu, (3) obrovské množství potenciálních aplikací pro transport léčiv včetně malých molekul, peptidů, proteinů a vakcín, (4) účinná kontrola dávkování a uvolňování léčiv pomocí

fyzikální (a nikoliv chemické) optimalizace materiálu, (5) biodegradabilní matrice poskytuje potenciální aplikace v ortopedii, léčení ran a regeneraci tkání, (6) biodegradabilita, sensorové, optické a polovodičové vlastnosti pro potenciální diagnostické aplikace.

*Autoři děkují Dr. G. Broncové, Dr. V. Vrkoslavovi, Dr. T. Chvojkovi, Doc. J. Jindřichovi, Mgr. A. Mackovi, RNDr. T. Holci, Dr. D. Nižňanskému a doc. Dr. I. Němcovi za spolupráci na dané problematice a cenné podněty, kterými přispěli k formě tohoto článku. Grantové agentuře ČR (GAČR 203/06/0786) a ministerstvu školství (MSM 0021620835 a MSM 0021620857) děkujeme za finanční podporu tohoto výzkumu.*

### LITERATURA

- Uhlir A.: Bell Syst. Tech. J. 35, 333 (1956).
- Imai K.: Solid State Electron. 24, 159 (1981).
- Canham L. T.: Appl. Phys. Lett. 57, 1046 (1990).
- Koch F., Petrova-Koch V., Muschik T.: J. Luminesc. 57, 271 (1993).
- Kanemitsu Y., Uto H., Matsumoto T.: Jpn. J. Appl. Phys., Pt. 2 34, 89 (1994).
- Vial J.-C., Derrien J. (ed.): *Porous Silicon Science and Technology*. Springer, Berlin 1995.
- Amato G., Delerue C., Bardeleben H.-J. (ed.): *Structural and Optical Properties of Porous Silicon Nanostructures*. Gordon and Breach Science Publishers, Amsterdam 1997.
- Canham L. T. (ed.): *Properties of Porous Silicon*. EMIS Datareview Series No. 18, London 1997.
- Dian J., Jelínek I.: Chem. Listy 104, 770 (2010).
- Klusoň P., Drobek M., Bartková H., Budil I.: Chem. Listy 101, 262 (2007).
- Slavíček P., Ončák M., Poterya V., Fárník M.: Chem. Listy 102, 467 (2008).
- Jesenák K.: Chem. Listy 101, 657 (2007).
- Král V., Šotola J., Neuwirth P., Kejík Z., Záruba K., Martásek P.: Chem. Listy 100, 4 (2006).
- Řezanka P., Záruba K., Král V.: Chem. Listy 101, 881 (2007).
- Gerischer H., Lübke M.: J. Electrochem. Soc. 135, 2782 (1988).
- Niwano M., Miura T., Kimura Y., Tajima R., Miyamoto N.: J. Appl. Phys 79, 3708 (1996).
- Turner D. R.: J. Electrochem. Soc. 105, 402 (1958).
- Lehman V., Gösele U.: Appl. Phys. Lett. 58, 856 (1991).
- Cullis, A. G., Canham, L. T., Calcott P. D.: J. Appl. Phys. 82, 909 (1997).
- Maruyama T. and Ohtani S.: Appl. Phys. Lett. 65, 1346 (1994).
- Petrova-Koch V., Muschik T., Kux A., Meyer B. K., Koch F., Lehmann V.: Appl. Phys. Lett. 61, 943 (1992).
- Koch, F.: MRS Symp. Proc. 298, 319 (1993).

23. Brandt M. S., Fuchs H. D., Stutzmann M., Weber J., Cardona M.: *Solid State Commun.* 81, 307 (1992).
24. Cullis, A. G., Canham, L. T., Williams, G. M., Smith, P. W. and Dosser, O. D.: *J. Appl. Phys.* 75, 493 (1994).
25. Wolford, D. J., Reimer, J. A., Scott, B. A.: *Physica B* 117, 920 (1983).
26. Wolkin M. V., Jorne J., Fauchet P. M., Allan G., Dellerue C.: *Phys. Rev. Lett.* 82, 197 (1999).
27. Harvey J. F., Shen H., Lux R. A., Dutta M., Pamulapati J., Tsu R.: *MRS Symp. Proc.* 265, 175 (1992).
28. Kovalev D. I., Yaroshetzki I. D., Muschik T., Petrova-Koch V., Koch F.: *Appl. Phys. Lett.* 64, 214 (1994).
29. Tsybeskov L., Vandyshev Yu. V., Fauchet P. M.: *Phys. Rev.*, B 49, 7821 (1994).
30. Harris, C. I., Syvajarvi, M., Bergman, J. P., Kordina, O., Henry, A., Monemar, B.: *Appl. Phys. Lett.* 65, 2451 (1994).
31. Jiang D. T., Coulthard I., Sham T. K., Lorimer J. W., Frigo S. P., Feng X. H., Rosenberg R. A.: *J. Appl. Phys.* 74, 6335 (1993).
32. Halimaoui A., v knize: *Porous Silicon Science and Technology*, (Vial J. C., Derrien J., ed.), kap. 3. Springer Verlag, Berlin 1995.
33. Hérino R., Bomchil G., Barla K., Bertrand C., Ginoux J.L.: *J. Electrochem. Soc.* 134, 1994 (1987).
34. Petrik P., Fried M. Vázsonyi É., Lohner T., Horváth E., Polgár O., Basa P., Bársony I., Gyulai J.: *Appl. Sufr. Sci.* 253, 200 (2006).
35. Chuang S. F., Collins S. D., Smith R. L.: *Appl. Phys. Lett.* 55, 675 (1989).
36. Dian J., Chvojka T., Vrkoslav V., Jelínek I.: *Phys. Stat. Sol* 9, 3481 (2005).
37. Fauchet P. M.: *Lumin. J.* 70, 294 (1996).
38. Thompson W. H., Yamani Z., Hassan L. H., Greene J. E., Nayfeh M., Hasan M. A. : *J. Appl. Phys* 80, 5415 (1996).
39. Lauerhaas J. M., Sailor M. J.: *Science* 261, 1567 (1993).
40. Hamilton B.: *Semiconductor Sci. Technol.* 10, 1187 (1995).
41. Sailor M. J., Lee E. J.: *Adv. Mater.* 9, 783 (1997).
42. Linford M. R., Chidsey C. E. D.: *J. Am. Chem. Soc.* 115, 12631 (1993).
43. Asanuma H., Lopinski G. P., Yu H. Z.: *Langmuir* 21, 5013 (2005).
44. Stewart M. P., Buriak J. M.: *J. Am. Chem. Soc.* 123, 7821 (2001).
45. Bateman J. E., Eagling R. D., Worrall D. R., Horrocks B. R., Houlton A.: *Angew. Chem. Int. Ed.* 37, 2683 (1998).
46. Marciniak B., Gulinski J.: *J. Organomet. Chem.* 446, 15 (1993).
47. Buriak J. M., Allen M. J.: *J. Am. Chem. Soc.* 120, 1339 (1998).
48. Kim N. Y., Laibinis P. E.: *J. Am. Chem. Soc.* 120, 4516 (1998).
49. Song J. H., Sailor M. J.: *Inorg. Chem.* 38, 1498 (1999).
50. Curtner C., Wun A. W., Sailor M. J.: *Angew. Chem. Int. Ed.* 38, 1966 (1998).
51. Robins E. G., Stewart M. P., Buriak J. M.: *Chem. Commun.* 1999, 2479.
52. Bsiesy A., Muller F., Ligeon M., Gaspard F., Herino R., Romestain R., Vial J. C.: *Appl. Phys. Lett.* 65, 3371 (1994).
53. Cox, T. I., v knize: *Properties of Porous Silicon*, kap. 10.2. INSPEC, London 1997.
54. Pavesi L., Dal Negro L., Mazzoleni C., Franzo G., Priolo F.: *Nature* 408, 440 (2000).
55. Luterová K., Dohnalová K., Švrček V., Pelant I., Likforman J. P., Cregut O., Gilliont P. Hönerlage B.: *Appl. Phys. Lett.* 84, 3280 (2004).
56. Akcakir O., Therrien J., Belomoin G., Barry N., Muller J. D., Gratton E., Nayfeh M.: *Appl. Phys. Lett.* 76, 1857 (2000).
57. Luterová K., Pelant I.: *Čs. Čas. Fyz.* 54, 320 (2004).
58. Chvojka T., Vrkoslav V., Jelínek I., Jindřich J., Lorenec M., Dian J.: *Sens. Actuators, B* 100, 246 (2004).
59. Hérino R., v knize: *Properties of Porous Silicon*, kap. 1.9. INSPEC, London 1997.
60. Vrkoslav V., Jelínek I., Matocha M., Král V., Dian J.: *Mat. Sci. Eng.*, C 25, 645 (2005).
61. Parkhutik V. P., Calleja R. D., Matveeva E. S., MartinezDuart J. M.: *Synt. Metals* 67, 111 (1994).
62. Vrkoslav V., Jelínek I., Broncová G., Král V., Dian J.: *Mat. Sci. Eng.*, C 26, 1072 (2006).
63. Balucani M., Bondarenko V., Dolgyi L., La Monica S., Maiello G. Masini G., Yakovtseva V., Ferrari A.: *Solid State Phenomena* 54, 75 (1997).
64. Schöning M. J., Malkoc Ü., Thust M. Steffen A., Kordoš P., Lüth H.: *Sens. Actuators, A* 65, 288 (2000).
65. Lin J., Moller S., Obermeier E.: *Sens. Actuators, B* 5, 223 (1991).
66. Thust M., Schöning M. J., Schroth P., Malkoc Ü., Dicker C. I., Steffen A., Kordoš P. Lüth H.: *J. Mol. Catal.*, B 7, 77 (1999).
67. Motohashi A., Ruike M., Kawakami M., Aoyagi H., Kinoshita A., Satou A.: *Jpn. J. Appl. Phys.* 35, 4253 (1996).
68. Schechter I., Ben-Chorin M., Kux A.: *Anal. Chem.* 67, 3727 (1995).
69. Barillaro G., Nannini A., Pieri F.: *Sens. Actuators, B* 93, 263 (2003).
70. Boarino L., Baratto C., Geobaldo F., Amato G., Comini E., Rossi A. M., Faglia G., Lerondel G., Sberveglieri G.: *Mat. Sci. Eng.*, B 69-70, 210 (2000).
71. Sailor M. J., v knize: *Properties of Porous Silicon*, kap. 12.4. INSPEC, London 1997.
72. Fellah S., Wehrspohn R. B., Gabouze N., Ozanam F., Chazalviel J. N.: *J. Luminesc.* 80, 109 (1999).
73. Harper J., Sailor M. J.: *Anal. Chem.* 68, 3713 (1996).
74. Fisher D. L., Harper J., Sailor M.J.: *J. Am. Chem. Soc.* 117, 7846 (1995).
75. Harper J., Sailor M. J.: *Anal. Chem.* 68, 3713 (1996).

76. Lin V. S. Y., Motesharei K., Dancil K. P. S., Sailor M. J., Ghadiri M. R.: *Science* 278, 840 (1997).
77. Canham L. T.: *Adv. Mater.* 7, 1033 (1995).
78. Mayne A. H., Bayliss S. C., Barr P., Tobin M., Buckberry L. D.: *Phys. Stat. Sol.* 182, 505 (2000).
79. Canham L. T., Stewart M. P., Buriak J. M., Reeves C. L., Anderson M., Squire E. K., Allcock P., Snow P. A.: *Phys. Stat. Sol.* 182, 521 (2000).
80. Arwin H., Gavutis M., Gustafsson J., Schultzberg M., Zangoie S., Tengvall P.: *Phys. Stat. Sol.* 182, 515 (2000).
81. Karlsson L. M., Tengvall P., Lundström I., Arwin H.: *Phys. Stat. Sol.* 197, 326 (2002).
82. Benstsson M., Ekström S., Drott A., Collins A., Csöregi E., Marko-Varga G., Laurell T.: *Phys. Stat. Sol.* 182, 495 (2000).
83. Coffey J. L., Montchamp J. L., Aimone J. B., Weis R. P.: *Phys. Stat. Sol.* 197, 336 (2003).
84. Whitehead M. A., Fan D., Mukherjee P., Akkaraju G. R., Canham L.T., Coffey J. L.: *Tissue Eng.* A14, 195 (2008).
85. Bayliss S. C., Buckberry L. D., Fletcher I., Tobin M. J.: *Sens. Actuators, A* 74, 139 (1999).

**J. Dian<sup>a</sup> and I. Jelinek<sup>b</sup>** (<sup>a</sup> *Department of Chemical Physics and Optics, Faculty of Mathematics and Physics,* <sup>b</sup> *Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague*): **Porous Silicon – A Modern Nanostructured Material**

Porous Si is a complex material with surprising physical and chemical properties as compared with crystalline Si. Properties of porous Si and its characterization methods used in the last two decades are reviewed. Surface functionalization substantially extends the application potential of porous Si; its applications in optoelectronics, chemosensors and medicine are presented.

## ELEKTROCHEMICKÁ DETEKCE S ELEKTRODAMI MIMO ROZTOK – ZNOVUZROZENÍ BEZKONTAKTNÍCH IMPEDANČNÍCH METOD

FRANTIŠEK OPEKAR a KAREL ŠTULÍK

Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra analytické chemie, Albertov 2030, 128 43 Praha 2  
opekar@natur.cuni.cz

Došlo 4.5.10, přijato 16.8.10.

Klíčová slova: bezkontaktní vodivostní detektor, impedanční detektor, kapilární elektroforéza, detekce v toku kapaliny

### Obsah

1. Úvod
2. Teoretický základ metod
3. Vliv geometrických parametrů detekční cely na měřený signál
  - 3.1. Tvar elektrod
  - 3.2. Šířka elektrod
  - 3.3. Šířka mezery mezi elektrodami
  - 3.4. Tloušťka dielektrika
4. Vliv parametrů vstupního střídavého signálu na vlastnosti detektoru
  - 4.1. Vliv frekvence
  - 4.2. Vliv amplitudy
5. Méně běžná uspořádání bezkontaktních impedančních detektorů
  - 5.1. Detekční cely
  - 5.2. Zpracování signálu
6. Závěr

### 1. Úvod

Neustále rostoucí nároky na detekci a stanovení nej-  
různějších látek ve stále nižších koncentracích a ve stále  
složitějších matricích vyvolávají tlak na výzkum a vývoj  
nových detekčních metod. Využíváno je při tom nejen  
nejrůznějších standardních měřicích principů, ale i inovace  
principů již v podstatě opuštěných. Typickým příkladem je  
revitalizace vysokofrekvenčních impedančních metod  
umožňujících měřit vodivost nebo permitivitu roztoků.  
Atraktivní na těchto metodách je skutečnost, že elektrody  
jsou umístěny na vnějších stěnách nádobek či potrubí  
z nevodivého materiálu, v nichž je analyzovaný roztok,  
protože vysokofrekvenční signál stěnami prochází. Elek-  
trody tak nejsou v přímém kontaktu s roztokem a jejich  
vlastnosti nejsou interakcí s tímto roztokem měněny. Na  
druhé straně však nelze využívat selektivních interakcí

mezi elektrodou a roztokem, které mohou přispívat  
k citlivosti a selektivitě detekce, což je možné v jiných  
elektroanalytických technikách.

V minulosti<sup>1,2</sup> byly tyto metody využívány pro dielek-  
trimetrická stanovení některých analytů (např. vody  
v kapalných či tuhých materiálech), především však jako  
detekční metoda při tzv. vysokofrekvenčních titracích;  
s výhodou byly používány při srážecích titracích či titra-  
cích v nevodném prostředí. Zřídka byly využívány pro  
detekci v kapalinové chromatografii, viz např.<sup>3,4</sup>, nebo  
izotachoforéze<sup>5,6</sup>. Rozšíření vysokofrekvenčních metod do  
praxe bránily především technické důvody – vysoké použí-  
vané frekvence, desítky až stovky MHz, kladly mimořádný  
nárok jak na zpracovatelskou elektroniku založenou na  
vakuových elektronkách, tak i na geometrické uspořádání  
detekčních cel. Obtížná byla často i interpretace měřených  
odezví, protože závislosti měřeného signálu na koncentra-  
ci byly obecně nelineární, často nemonotonní a do značné  
míry empirické.

Na konci 90. let minulého století byla publikována  
zapojení<sup>7,8</sup> umožňující použít k impedančním měřením  
nižších frekvencí, řádově stovky kHz. Signál o těchto frek-  
vencích též prochází stěnami, ale používaná elektronika,  
polovodičové operační zesilovače, i detekční cely mohly  
být podstatně jednodušší, snadnější byla i interpretace  
měřených signálů. Inovovaná metoda byla navržena a je  
využívána především pro tzv. bezkontaktní vodivostní  
detekci v kapilární elektroforéze a v elektroforéze na čipu  
(je často označována jako C<sup>4</sup>D, Capacitively Coupled  
Contactless Conductivity Detection), viz např. přehledové  
referáty z poslední doby<sup>9,10</sup>, ale nachází uplatnění  
i v jiných průtokových metodách.

Do vývoje a využívání inovovaných vysokofrekven-  
čních impedančních metod se intenzivně zapojila i katedra  
analytické chemie na Přírodovědecké fakultě Univerzity  
Karlovy v Praze. Následující text shrnuje a kriticky hod-  
notí výsledky získané na této katedře za posledních asi  
deset let a zařazuje je do kontextu celosvětového výzkumu  
v této oblasti. Výzkum byl zaměřen především na vlivy  
geometrického uspořádání detekčních cel na charakter  
odezvy a hledána byla jejich nová a netradiční uspořádání  
využitelná pro detekci látek při nejrůznějších analýzách  
v toku kapaliny.

### 2. Teoretický základ metod

Bezkontaktní detekční cely obsahují dvě elektrody  
izolované od testovaného roztoku. Na jednu z elektrod je  
přiváděn střídavý signál o vhodné frekvenci (zpravidla  
sinusového průběhu), signál prošlý roztokem (střídavý  
proud) je snímán elektrodou druhou, usměrněn, zesílen  
a registrován.

Zjednodušený (ale pro základní teoretický popis vyhovující) náhradní obvod bezkontaktní impedanční cely je na obr. 1.  $C$  jsou kapacity kondenzátorů, které se vytváří mezi elektrodou a roztokem, v nichž je dielektrikem materiál oddělující elektrodu od roztoku,  $R$  je odpor roztoku v prostoru mezi elektrodami a  $C_x$  je parazitní kapacita umožňující přenos elektrického signálu mezi elektrodami mimo roztok, tj. po povrchu či uvnitř dielektrika.

Velikost měřeného proudu prošlého detekční celou (analytický signál) závisí na impedanci cely  $Z$ . Tu lze popsat obecným vztahem

$$Z = R + iX \quad (1)$$

kde reálná část, rezistance  $R$ , je funkcí geometrických parametrů cely a vodivosti roztoku. Imaginární část impedance, kapacitance  $X$ , je rovněž funkcí geometrických parametrů cely, které s relativní permitivitou dielektrika a roztoku určují kapacity kondenzátorů  $C$  a  $C_x$ , a kromě toho závisí i na úhlové rychlosti  $\omega$  vstupního střídavého signálu, resp. na jeho frekvenci  $f$  ( $\omega = 2\pi f$ ). Podle experimentálních podmínek měření (geometrické uspořádání impedanční cely, charakter měřeného roztoku, frekvence střídavého signálu) se na celkové impedanci může podílet více rezistance, pak jde o bezkontaktní vodivostní detekci, nebo kapacitance, pak jde o dielektrická měření, dk-metrii.

Impedanci cely z obr. 1 lze popsat výrazem

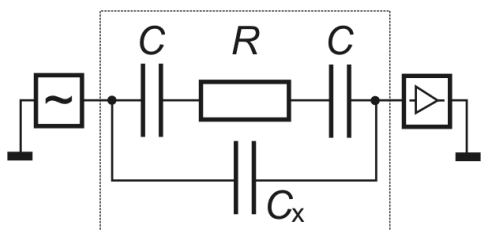
$$Z = \frac{Z_1 Z_2}{Z_1 + Z_2} \quad (2)$$

kde  $Z_1$  je impedance určovaná seriovou kombinací kapacit  $C$  a odporu  $R$ ,

$$Z_1 = R - 2 \frac{i}{\omega C} \quad (3)$$

a  $Z_2$  je impedance určovaná parazitní kapacitou  $C_x$

$$Z_2 = - \frac{i}{\omega C_x} \quad (4)$$



Obr. 1. Zjednodušený náhradní obvod bezkontaktní impedanční cely a její připojení ke zdroji vysokofrekvenčního signálu a k měřidlu signálu prošlého celou

Analytický signál určuje změna impedance cely  $\Delta Z$

$$\Delta Z = Z_A - Z_E \quad (5)$$

kde  $Z_A$  a  $Z_E$  jsou impedance cely, v jejímž detekčním prostoru je analyt nebo pouze nosné médium. Analytickým signálem je střídavý proud  $I$

$$I = U \frac{1}{|\Delta Z|} \quad (6)$$

kde  $U$  je amplituda vstupního střídavého signálu.

Příklady typických geometrických uspořádání bezkontaktních detekčních cel jsou na obr. 2. Nejběžnější je tubulární uspořádání využívané především v kapilární elektroforéze, planární uspořádání je vhodné pro detekci v elektroforéze na čipu či obdobných mikrofluidních systémech. Pro nejčastější tubulární uspořádání platí pro  $R$  a  $C$  v rov. (3)

$$R = \frac{1}{\kappa} \frac{w + d}{\pi r_1^2} \quad (7)$$

a

$$C = \frac{\pi \epsilon_0 \epsilon_r w}{\ln(r_2 / r_1)} \quad (8)$$

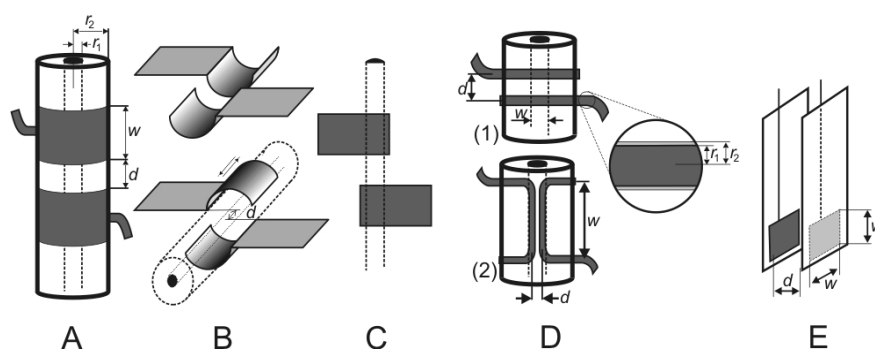
kde  $\kappa$  je měrná vodivost roztoku,  $\epsilon_0$  a  $\epsilon_r$  jsou permitivity vakua ( $8,85 \cdot 10^{-12} \text{ F m}^{-1}$ ) a relativní permitivity dielektrika tvořícího stěnu trubičky s roztokem, ostatní symboly jsou definovány v popisku k obr. 2.

Na uvedeném teoretickém základě lze chování detekčních cel modelovat pro různé experimentální podmínky. Hodnota parazitní kapacity  $C_x$  je zpravidla hledána empiricky, její hodnota je řádu desetin až jednotek pF. Modelované i experimentální závislosti je výhodné prezentovat v normalizované formě, aby je bylo možno znázornit v jednom grafu či vzájemně porovnat. V absolutních hodnotách se modelované a experimentální závislosti zpravidla liší, protože použitý model je zjednodušený, ale průběh modelovaných závislostí obvykle poměrně dobře odpovídá závislostem experimentálním a umožňuje tak předpovídat a optimalizovat chování a vlastnosti studovaného systému.

### 3. Vliv geometrických parametrů detekční cely na měřený signál

#### 3.1. Tvar elektrod

Z našich měření vyplývá<sup>11,12</sup>, že nahrazením nejčastěji používaných tubulárních elektrod v kapilární elektroforéze (obr. 2A) elektrodami semitubulárními (obr. 2B) se parametry detektoru změní zanedbatelně, ale nové uspořádání



Obr. 2. Příklady testovaných realizací bezkontaktních impedančních cel s tubulárními (A), semitubulárními v konfiguraci vedle sebe nebo proti sobě (B), planárními (C), izolovanými drátkovými elektrodami (D) a planárními v konfiguraci proti sobě (E). U jednotlivých uspořádání jsou vyznačeny základní geometrické parametry používané při teoretickém popisu cely,  $w$  – geometrická šířka elektrod,  $d$  – šířka mezery mezi elektrodami,  $r_1$  a  $r_2$  – vnitřní a vnější poloměr trubičky (kapiláry) s roztokem či poloměr drátku bez a s izolačním filmem

přináší řadu výhod. V testovaných detektorech byly semitubulární elektrody vlepny do drážky tvaru U o průměru rovném vnějšímu průměru kapiláry, vytvořené v destičce z plexiskla. Kapilára byla vložena do drážky a těsně přitlačena k elektrodám pomocnou destičkou. Výhodou tohoto uspořádání je:

- možnost snadné výměny kapiláry při jejím poškození,
- kapilára je k elektrodám přitlačena bez vzduchové mezery mezi stěnou kapiláry a elektrodou. V detektorech s tubulárními elektrodami musí být vnitřní průměr tubulárních elektrod větší než vnější průměr kapiláry tak, aby jí mohla kapilára volně procházet při její výměně. Tím vzniká mezi stěnou elektrody a kapiláry vzduchová mezera a možná změna vzdálenosti kapiláry od elektrody tak přispívá k šumu detektoru<sup>13</sup>.

Bylo rovněž ukázáno<sup>12</sup>, že prakticky použitelný je i detektor s planárními elektrodami, obr. 2C, k nimž je separační kapilára přitlačena. Konstrukce je tak velice jednoduchá, elektrody mohou být vytvořeny např. přímo na destičce s tištěnými spoji obsahující elektroniku detektoru. Citlivost je proti citlivosti detektoru s tubulárními elektrodami snížena pouze na méně než polovinu. Planární elektrody však mají význam především v elektroforéze na čipu, kde jsou přitisknuty k víčku čipu v blízkosti konce separačního kanálu. Na prvních pracích popisujících základní charakteristiky bezkontaktní vodivostní detekce při separacích na čipu<sup>14</sup> i její praktické využití při detekci zplodin po explozích<sup>15</sup> se podílela i katedra analytické chemie na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy v Praze.

Pro přípravu elektrod používaných ve všech zmíněných detektorech se osvědčila aluminiová fólie o tloušťce 10  $\mu\text{m}$ . Elektrody z tohoto materiálu, podobně jako elektrody vytvářené přímo na povrchu kapiláry vodivými laky, mají malou tloušťku, takže parazitní přenos mezi nimi mimo roztok je malý. V detektorech s tubulárními elektrodami o větších tloušťkách je tento parazitický přenos významnější a bývá proto snižován vložení uzemněné stíni-

cí fólie do mezery mezi elektrodami<sup>16</sup>. Detekční cely je tak složitější a nadto střídavý proud prošlý roztokem se dělí mezi snímací elektrodu a uzemněnou stínicí fólii, což vede ke snížení citlivosti detekce.

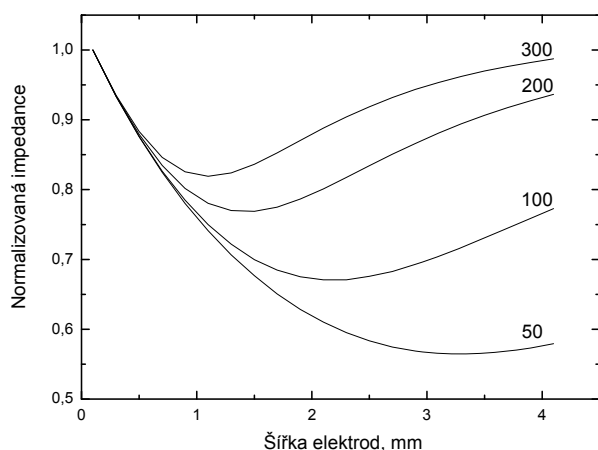
### 3.2. Šířka elektrod

Při studiu vlivu šířky tubulárních elektrod (obr. 2A) na citlivost a dosaženou separační účinnost (šířku píku separovaných látek) v CE bylo zjištěno, že geometrická šířka elektrod má velmi malý vliv na velikost signálu i na šířky píků<sup>7</sup>. Rovněž bylo ukázáno, že při používání detekčních cel s úzkými elektrodami (2 mm) je optimální frekvence, při níž je dosaženo největší odezvy, řádu stovek kHz (400 až 600 kHz)<sup>8,17</sup>, zatímco vhodné frekvence pro cely s elektrodami širokými 15 až 50 mm byly řádově nižší, 20 až 40 kHz (cit.<sup>7</sup>), či 40 až 100 kHz (cit.<sup>18</sup>).

Z našich simulačních studií (obr. 3) vyplývá, že závislost impedance cely na šířce elektrod prochází minimem a střídavý elektrický proud bude procházet detekční celou po trajektorii vyznačující se nejmenší hodnotou impedance. Nemusí proto procházet celou geometrickou šířkou elektrod  $w$ , ale pouze šířkou efektivní<sup>19</sup>  $w_{\text{eff}}$ , pro níž je impedance minimální.

Jak je vidět z obr. 3, efektivní šířka elektrod se mění s měnící se frekvencí střídavého signálu; čím je vyšší používaná frekvence, tím je efektivní šířka menší. Z toho plynou tyto závěry:

- Je-li  $w > w_{\text{eff}}$ , prochází proud pouze částí geometrické plochy elektrody a není závislý na její celkové délce. Tím je vysvětlen malý vliv geometrické šířky elektrod na velikost signálu i na šířky píků. Délka detekčního prostoru je rovna  $2 \times w_{\text{eff}} + d$  a tato délka určuje efektivní objem detektoru a tím i eventuální vliv detekčního objemu na separační účinnost. Detekční objem se mění se změnou frekvence. Při vysokých frekvencích lze používat detekční cely s úzkými elektrodami aniž je ovlivněna citlivost detekce. Při použití širokých



Obr. 3. Modelovaná závislost impedance na šířce elektrod pro různé frekvence (uvedeny u křivek v kHz). Parametry modelování: křemenná kapilára,  $r_1 = 37,5 \mu\text{m}$ ,  $r_2 = 190 \mu\text{m}$ ;  $\epsilon_r = 4,3$ ;  $d = 1 \text{ mm}$ ,  $C_x = 0,1 \text{ pF}$  (odhad); vodivost nosného elektrolytu (20 mM MES/HIS),  $\kappa_E = 4,62 \cdot 10^{-2} \text{ S m}^{-1}$ , vodivost zóny analytu (10  $\mu\text{M}$  KCl),  $\kappa_A = 1,5 \cdot 10^{-4} \text{ S m}^{-1}$

elektrod mohou být frekvence vstupního střídavého signálu nižší.

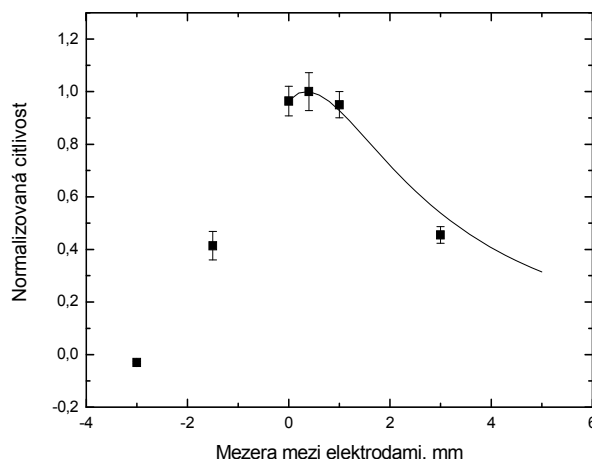
- b) Je-li  $w < w_{\text{eff}}$ , je proud tekoucí detekční celou menší než by odpovídalo vodivosti roztoku v cele a citlivost detekce je snížena. Délka detekčního prostoru je rovna  $2 \times w + d$ , tj. je určována geometrickými rozměry elektrod. Detekční objem, a tím i vliv detektoru na separační účinnost, bude málo závislý na frekvenci.

Teorii efektivní šířky elektrod potvrzují i výsledky v práci<sup>20</sup>.

### 3.3. Šířka mezery mezi elektrodami

Vliv šířky mezery mezi detekčními elektrodami na citlivost detekce byl studován s detekční celou se semicylindrickými elektrodami umístěnými proti sobě, viz obr. 2B. Jedna z elektrod je pevná, druhou elektrodou lze po povrchu kapiláry pohybovat a měnit tak šířku mezery mezi nimi<sup>12</sup>.

Z grafického znázornění citlivosti na vzdálenosti elektrod na obr. 4 je vidět, že v souladu s předpokladem, experimentálně zjištěná citlivost detekce s klesající vzdáleností elektrod roste, protože klesá odporová složka impedance cely. Od hodnoty asi 1 mm až k 0 mm je v mezích intervalu spolehlivosti prakticky stejná, lze však předpokládat mírný pokles citlivosti, jak naznačuje i modelovaná závislost. Jakmile se elektrody začnou překrývat, citlivost výrazně klesá, protože se mění charakter detekce – roste vliv kapacitní složky impedance a klesá vliv složky odporové. Při úplném překrytí elektrod je odporová složka zanedbatelná a signál určuje především permitivita.



Obr. 4. Závislost citlivosti detekce na vzdálenosti elektrod. Body – experiment (hodnoty vzaty z práce<sup>12</sup>), plná čára – modelový výpočet. Parametry modelování:  $w = 1,6 \text{ mm}$ ,  $f = 300 \text{ kHz}$ , ostatní parametry viz obr. 3. Vzdálenosti označené záporným číslem představují odpovídající překryv elektrod

### 3.4. Tloušťka dielektrika

S klesající tloušťkou dielektrika roste kapacita kondenzátorů  $C$  v náhradním obvodu detekční cely, takže kapacitní složka impedance přispívá méně k celkové impedanci detekční cely a proudový signál roste. Tloušťka stěny kapilár o vnějším průměru 380  $\mu\text{m}$  a vnitřním průměru 75  $\mu\text{m}$  používaných v CE je nejčastěji asi 150  $\mu\text{m}$ . Při ztenčení stěny v místě detekce na asi 100  $\mu\text{m}$ , tj. o 30 %, a s planárními elektrodami bylo dosaženo zvýšení citlivosti o více než 120 % proti detekci v neupravené kapiláře<sup>12</sup>.

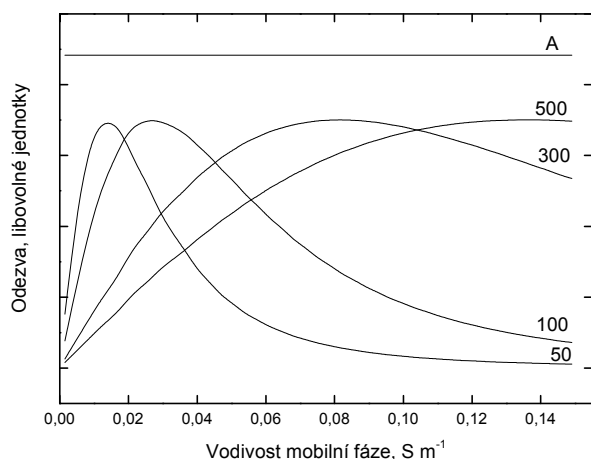
Stěna kapiláry byla ztenčována broušením ve speciálním přípravku a planární elektrody byly přilepeny přímo na zbroušenou kapiláru. V číkové elektroforéze lze zvýšení citlivosti dosáhnout snížením tloušťky víčka mezi elektrodami a separačním kanálem<sup>21</sup>.

## 4. Vliv parametrů vstupního střídavého signálu na vlastnosti detektoru

Vliv frekvence a amplitudy vstupního střídavého signálu na měřený signál je experimentálně snadno sledovatelný, proto byl studován častěji než vliv geometrie cely. Na charakter signálu prošlého detekční celou má při vysokých frekvencích vliv i použitá elektronika, především typ operačních zesilovačů<sup>22,23</sup>.

### 4.1. Vliv frekvence

Obecný problém při optimalizaci detekčních parametrů spočívá v tom, že vliv jednotlivých parametrů detektoru na měřený signál, tj. především geometrie cely (šířka elek-



Obr. 5. Modelovaná závislost odezvy detektoru na roztok vzorku o konstantní vodivosti dávkovaný do roztoku mobilní fáze o různých vodivostech a při různých frekvencích vstupního signálu (frekvence v kHz uvedena u křivek). Pro srovnání je uvedena i odezva v případě, že by se v detekční cele uplatňoval pouze ohmický odpor roztoku (A). Parametry modelování: vodivost mobilní fáze,  $\kappa_E$  je z oboru  $1,5 \cdot 10^{-3}$  až  $1,5 \cdot 10^{-1}$  S m<sup>-1</sup> (odpovídající asi  $10^{-4}$  až  $10^{-2}$  M-KCl), vodivost analytu,  $\kappa_A = 1,5 \cdot 10^{-4}$  S m<sup>-1</sup> (odpovídá asi  $10^{-5}$  M-KCl; detegovaná vodivost je rovna  $\kappa_E + \kappa_A$ ),  $w = 2$  mm, ostatní parametry viz obr. 3

trod, šířka mezery mezi nimi), frekvence a vodivost roztoku, nelze vyšetřovat izolovaně. Změna jednoho z parametrů ovlivní i parametry ostatní. V podstatě pro každou geometrickou konfiguraci detekční cely a každý roztok o určité vodivosti by bylo nutno hledat optimální frekvenci, při níž je poměr signál/šum nejvyšší. Uvedenou situaci ilustruje obr. 5, kde je znázorněna závislost odezvy detektoru na nadávkování vzorku o konstantní vodivosti do roztoků mobilní fáze o různých vodivostech při různých frekvencích vstupního střídavého signálu<sup>24</sup>. Z modelu plyne, že:

- optimální detekční frekvence, tj. frekvence, při níž je odezva nejvyšší, roste s rostoucí vodivostí detegovaného roztoku. Čím je vodivost roztoku menší, tím citlivější je nastavení optimální frekvence na změnu vodivosti roztoku,
- kalibrační závislosti zjišťované při konstantní frekvenci jsou nelineární a v širším rozsahu vodivostí mohou být i nemonotonní, především při nižších používaných frekvencích.

Obdobné výsledky byly publikovány např. v práci<sup>25</sup>.

#### 4.2. Vliv amplitudy

Amplituda střídavého signálu má na charakter odezev bezkontaktních impedančních detektorů relativně malý vliv. Obecně platí, že čím je amplituda větší, tím větší je i měřený signál. V literatuře byly popsány detektory pracující s amplitudou od 0,5 V (cit.<sup>17</sup>) do 450 V (cit.<sup>26</sup>), nejčastěji je však používána amplituda 10 až 20 V, kterou poskytují běžné generátory střídavého signálu. Bez výrazného

vlivu je i používání střídavých signálů jiného tvaru (trojúhelník, square wave) než sinusového.

### 5. Méně běžná uspořádání bezkontaktních impedančních detektorů

Kromě standardních detektorů popsaných výše, byla vyvíjena, testována a využívána nová, netradiční, geometrická uspořádání bezkontaktních impedančních cel a nové způsoby zpracování analytických signálů z těchto cel.

#### 5.1. Detekční cely

Konstrukce bezkontaktních detekčních cel s tubulárními nebo semitubulárními elektrodami umožňuje přivést do detekční mezery mezi elektrody světlovodným vláknem záření z UV detektoru a záření prošlé kapilárou buď vést k detektoru dalším světlovodným vláknem nebo přímo snímat velkoplošnou fotodiodou<sup>27–29</sup>. Výsledkem je duální detektor využívající dvou různých detekčních principů, přičemž k bezkontaktní vodivostní a optické detekci dochází v jednom místě separační kapiláry. V jiných konstrukcích kombinovaných detektorů jsou jednotlivé detektory zpravidla umístěny v sérii podél kapiláry, takže jejich odezvy jsou jednak posunuty v čase a jednak odpovídají různému stupni separace. Duální detekce byla využita při stanovení nedokonale separovaných aminokyselin<sup>30</sup>.

V kapalinové chromatografii je často používán tenkovrstvý ampérometrický detektor. Stejně geometrické uspořádání bylo vyvinuto i pro bezkontaktní vodivostní detekci<sup>31</sup> a využito při separaci a stanovení polykarboxylátových derivátů cyklenu<sup>32</sup>.

Zcela nový přístup ke konstrukci bezkontaktní vodivostní cely, v níž je tloušťka dielektrika mezi elektrodou a roztokem výrazně snížena, byl popsán v práci<sup>33</sup>. Vodivostními elektrodami jsou kovové drátky pokryté tenkým filmem izolačního materiálu umístěné přímo uvnitř trubice s testovaným roztokem, viz obr. 2D. Při použití např. lakem izolovaného měděného drátu používaného běžně v elektrotechnice pro navíjení cívek transformátorů a elektrických motorů, je tloušťka dielektrika mezi elektrodou a roztokem řádu jednotek  $\mu\text{m}$ . Elektrody mohou být v trubici umístěny příčně nebo podélně vzhledem k ose trubice. Tento typ vodivostních cel není realizovatelný v křemenných kapilárách používaných pro CE, ale lze ho využít v plastových trubicích používaných v kapalinové chromatografii, průtokové injekční analýze atp. V průtokové injekční analýze byl použit při stanovení totálního obsahu anorganického uhlíku<sup>34</sup>.

#### 5.2. Zpracování signálu

Při bezkontaktní vodivostní detekci je analytickým signálem střídavý elektrický proud, jehož velikost je určována především odporovou komponentou impedance detekční cely. Na celkové impedanci se však podílí i kapacit-



ní komponenta, viz rov. (1), která, pokud se mění se změnou obsahu analytu ve vzorku, může být též využita k detekci. Změna kapacity cely se může projevit např. změnou frekvence elektronického multivibrátoru, k němuž je cela připojena jako kondenzátor určující frekvenci. Tohoto velice jednoduchého uspořádání bylo použito pro stanovení koncentrace a relativní permittivity vodných roztoků různých rozpouštědel (ethanol, methanol, dioxan) a pro stanovení obsahu ethanolu v automobilovém benzínu<sup>35</sup>. Detekční celou byla dvojice planárních elektrod odizolovaných od roztoku plastovou fólií umístěných proti sobě, viz obr. 2E.

Kapacitní detekční cela může být též zapojena ve vstupu derivačního operačního zesilovače. Pro jeho výstupní napětí  $E_0$  platí vztah

$$|E_0| = RC \frac{dE_i}{dt} \quad (9)$$

kde  $R$  je konstantní zpětnovazební odpor derivačního zesilovače a  $C$  je kapacita detekční cely. Pokud je změna vstupního napětí  $dE_i/dt$  konstantní, např. na vstup je přiváděno symetrické napětí trojúhelníkového tvaru, je na výstupu zesilovače napětí úměrné kapacitě detekční cely. Uvedený způsob zpracování signálu z bezkontaktní detekční cely tvořené izolovanými drátkovými elektrodami (obr. 2D) byl teoreticky modelován a použit pro stanovení obsahu methanolu a dioxanu ve vodném roztoku<sup>36</sup>.

Při bezkontaktních impedančních měřeních je často používáno frekvencí řádu stovek kHz, které spadají do oblasti frekvencí středovlnného radiového vysílání. Je tedy zřejmé, že ke zpracování střídavého signálu ze snímací elektrody je možno využít elektroniky používané v radiových přijímačích. Testován byl integrovaný obvod pro středovlnný přijímač, typ TDA 1072A, firmy Philips Semiconductors. Tento obvod, speciálně navržený pro zpracování střídavých signálů používaných frekvencí, nahrazuje několikastupňovou elektroniku ve standardním detektoru – snímání proudu, usměrnění a zesílení signálu. Detektor s tímto obvodem byl použit pro stanovení vodivosti pitných vod<sup>37,38</sup>.

## 6. Závěr

Bezkontaktní impedanční metody byly využity při řešení mnoha praktických analytických úloh, z nichž řada již byla zmíněna v předchozím textu. Jejich hlavní význam, jak již bylo řečeno, leží v oblasti vodivostní detekce iontových látek v separačních metodách. Na katedře analytické chemie, ve spolupráci s partnerskými organizacemi, byla bezkontaktní vodivostní detekce využita dále při elektroforetické separaci a stanovení kationtů v minerálních vodách<sup>39</sup> a při stanovení řady biochemicky či klinicky významných látek<sup>40–42</sup>. Byla dále aplikována i na sledování reakčních mechanismů organických reakcí, v nichž vystupují látky iontové povahy, a které probíhají ve zcela uzavřeném prostoru bez přístupu vzdušného kyslíku<sup>43</sup>.

Závěrem lze říci, že bezkontaktní impedanční metody významně přispívají k řešení obecného problému elektroanalýzy, s nímž se elektroanalytici potýkají od zavedení elektrod z tuhých materiálů (tedy jiných než rtuť v kapající elektrodě) do praktické analýzy. Jde o udržení stabilní aktivity indikační elektrody, která je v klasických metodách v přímém kontaktu s analyzovaným prostředím a tak je vystavena nepříznivému působení matrice analyzovaného vzorku. Je škoda, že bezkontaktní detekce je z principu omezena pouze na metody konduktometrické a dielektrické.

*Práce vznikla při řešení projektů podporovaných MŠMT ČR, výzkumný záměr MSM 0021620857 a GA ČR, grant P206/10/1231.*

## LITERATURA

1. Reilley C. N.: High Frequency Methods, v knize: *New Instrumental Methods in Electrochemistry*, (Delahay P., ed.). Interscience, New York 1954.
2. Pungor E.: *Oscillometry and Conductometry*. Pergamon Press, Oxford 1965.
3. Haderka S.: *J. Chromatogr.* 91, 167 (1974)
4. Alder J. F., Fielden P. R., Clark A. J.: *Anal. Chem.* 56, 985 (1984).
5. Gaš B., Vacík J.: *Chem. Listy* 74, 652 (1980).
6. Gaš B., Demjaněnko M., Vacík J.: *J. Chromatogr.* 192, 253 (1980).
7. Zemann A. J., Schnell E., Volgger D., Bonn G. K.: *Anal. Chem.* 70, 563 (1998).
8. da Silva J. A. F., do Lago C. L.: *Anal. Chem.* 70, 4339 (1998).
9. Kubáň P., Hauser P. C.: *Electrophoresis* 30, 176 (2009).
10. Pumera M.: *Talanta* 74, 358 (2007).
11. Tůma P., Opekar F., Jelínek I.: *Electroanalysis* 13, 989 (2001).
12. Novotný M., Opekar F., Štulík K.: *Electroanalysis* 17, 1181 (2005).
13. Geraldo J., Brito-Neto A., da Silva J. A. F., Blane L., do Lado C. L.: *Electroanalysis* 17, 1207 (2005).
14. Pumera M., Wang J., Opekar F., Jelínek I., Feldman J., Löwe H., Hardt S.: *Anal. Chem.* 74, 1968 (2002).
15. Wang J., Pumera M., Collins G., Opekar F., Jelínek I.: *Analyst* 127, 719 (2002).
16. Gaš B., Zuska J., Coufal P., van de Goor T.: *Electrophoresis* 23, 3520 (2002).
17. da Silva J. F. A., Guzman N., do Lago C. L.: *J. Chromatogr., A* 942, 249 (2002).
18. Mayrhofer K., Zemann A. J., Schnell E., Bonn G. K.: *Anal. Chem.* 71, 3828 (1999).
19. Tůma P., Opekar F., Štulík K.: *Electrophoresis* 23, 3718 (2002).
20. Kubáň P., Hauser P. C.: *Electrophoresis* 25, 3387 (2004).
21. Tanyaniwa J., Hauser P. C.: *Anal. Chem.* 74, 6378 (2002).

22. Tanyanyiwa J., Hauser P. C.: *Electrophoresis* 23, 3781 (2002).
23. Kubáň P., Hauser P. C.: *Electrophoresis* 25, 3387 (2004).
24. Opekar F.: nepublikované výsledky.
25. Geraldo J., Brito-Neto A., da Silva J. A. F., Blane L., do Lado C. L.: *Electroanalysis* 17, 1198 (2005).
26. Tanyanyiwa J., Schweizer K., Hauser P. C.: *Electrophoresis* 24, 2119 (2003).
27. Chvojka T., Jelínek I., Opekar F., Štulík K.: *Anal. Chim. Acta* 433, 13 (2001).
28. Novotný M., Opekar F., Jelínek I., Štulík K.: *Anal. Chim. Acta* 525, 17 (2004).
29. Novotný M., Opekar F., Jelínek I.: *Chem. Listy* 99, 132 (2005).
30. Zikmundová J., Tůma P., Opekar F.: *J. Sep. Sci.* 31, 353 (2008).
31. Míka J., Opekar F., Coufal P., Štulík K.: *Anal. Chim. Acta* 650, 189 (2009).
32. Hamplová A., Coufal P., Bosáková Z., Opekar F., Kubíček V.: *Chem. Listy* 102, 194 (2008).
33. Hoherčáková Z., Opekar F., Štulík K.: *Electroanalysis* 17, 1924 (2005).
34. Hoherčáková Z., Opekar F.: *Anal. Chim. Acta* 551, 132 (2005).
35. Opekar F., Štulík K., Fišarová M.: *Electroanalysis* 21, 96 (2009).
36. Nádherná M., Opekar F., Štulík K.: *Electroanalysis* 19, 2413 (2007).
37. Opekar F.: *Chem. Listy* 103, 839 (2009).
38. Opekar F., Štulík K., Fenclová K.: *Electroanalysis* 22, 161 (2010).
39. Šolínová V., Jelínek I., Opekar F., Kašička V.: *Chem. Listy* 98, 191 (2004).
40. Tůma P., Samcová E., Opekar F., Jurka V., Štulík K.: *Electrophoresis* 28, 2174 (2007).
41. Tůma P., Samcová E., Opekar F., Štulík K.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 73, 187 (2008).
42. Tůma P., Opekar F., Samcová E., Štulík K.: *Electroanalysis* 20, 477 (2008).
43. Hrdina R., Opekar F., Roithová J., Kotora M.: *Chem. Commun.* 2009, 2314.

**F. Opekar and K. Štulík** (*Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague*): **Electrochemical Detection with Electrodes Outside the Test Solution – The Rebirth of Contactless Impedance Methods**

The paper critically discusses the results obtained in the theory of high-frequency impedance sensors (at present, capacitively-coupled contactless conductivity sensors), the principal approaches to designing impedance flow-through cells and their operational parameters, and places them into the world research context. Examples are given of cell designs for continuous-flow and flow-injection analysis, and of detection systems for liquid chromatography and capillary electrophoresis. Cells for batch analyses are also presented and their operational parameters discussed.

## ANALYTICKÁ ULTRACENTRIFUGA A JEJÍ VYUŽITÍ V BIOCHEMICKÉ LABORATOŘI

ONDŘEJ VANĚK<sup>a,b</sup> a KAREL BEZOUŠKA<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Katedra biochemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze, Hlavova 8, 128 40 Praha 2, <sup>b</sup> Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i., Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4

kenav3@seznam.cz, bezouska@biomed.cas.cz

Došlo 15.7.10, přijato 26.8.10.

Klíčová slova: analytická ultracentrifuga, sedimentační rychlost, sedimentační rovnováha, molekulová hmotnost, rovnovážná konstanta

### Obsah

1. Úvod
2. Historie analytické ultracentrifugy
3. Přístroj a jeho parametry
4. Přehled aplikací
5. Sedimentační rychlost
6. Sedimentační rovnováha
7. Analýza sedimentačních dat
8. Příklady analýz
9. Závěr

### 1. Úvod

Cílem sedimentační analýzy prováděné pomocí analytické ultracentrifugy je charakterizace sedimentujících částic z hlediska jejich molekulové hmotnosti, sedimentačního koeficientu a dalších hydrodynamických vlastností. Ze sedimentačních dat lze získat odhad velikosti a tvaru částic, údaje o distribuci jednotlivých typů sedimentujících částic ve vzorku a v neposlední řadě studovat rovnovážné systémy, včetně určení příslušných rovnovážných konstant. Vztáhneme-li pojem sedimentující částice například na molekulu proteinu, je z výše uvedeného výčtu hlavních aplikací této metody zřejmé, že v oblasti výzkumu biomakromolekul, především proteinů a nukleových kyselin, může mít sedimentační analýza velké uplatnění. Je to navíc jedna z nemnoha metod, které umožňují určit molekulovou hmotnost přímo, bez nutnosti kalibrace či interakce s matricí, a to přímo ve vodném prostředí (nejčastěji v pufru) za fyziologických podmínek. A tak přestože se jedná o metodu již bezmála sto let starou, nachází stále velké uplatnění nejen ve vědě a výzkumu, ale i ve farmaceutickém průmyslu. Cílem tohoto referátu je podat přehled o principech a praktických aplikacích sedimentační

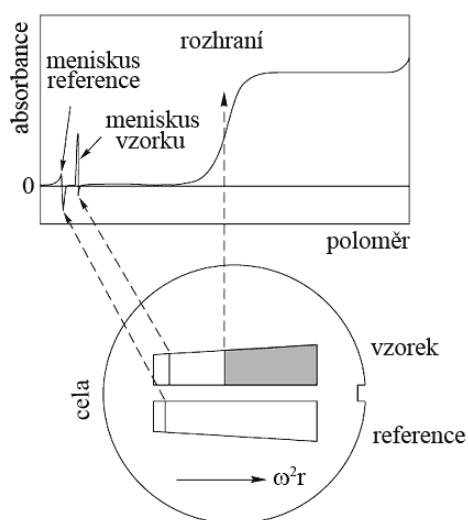
analýzy s důrazem na analýzu biomakromolekul. Tento referát je publikován ve zkrácené verzi, plnou verzi dvojnásobného rozsahu lze stáhnout ze stránek katedry biochemie UK PřF, <http://www.natur.cuni.cz/chemie/biochem/sluzby>.

### 2. Historie analytické ultracentrifugy

Historii analytické ultracentrifugy započal její konstruktér a objevitel metody sedimentační analýzy Theodor Svedberg (1884–1971)<sup>1</sup>. Rodák ze švédského Fleräng, okres Gävleborg, se stal v roce 1904 studentem univerzity v Uppsale, která už také zůstala jeho hlavním celoživotním působištěm. V letech 1912–1949 zastával na této univerzitě funkci profesora fyzikální chemie. Svedbergova práce se týkala převážně koloidů a makromolekulárních látek. Spolu s četnými spolupracovníky studoval fyzikální vlastnosti koloidů, zejména jejich difuzi, absorpci světla a sedimentaci, což mu umožnilo potvrdit, že termodynamické zákony plynů lze aplikovat také na disperzní systémy. Pro studium sedimentace sestrojil analytickou ultracentrifugu, s níž sledoval sedimentaci velkých molekul (proteinů, sacharidů, polymerů) v roztoku a tato pozorování uvedl do vztahu k molekulové velikosti a tvaru sedimentujících molekul. Ukázal tak, že molekuly daného čistého proteinu mají všechny stejný tvar a že s využitím analytické ultracentrifugy lze prokázat přítomnost kontaminujících látek. Za práci na disperzních systémech mu byla roku 1926 udělena Nobelova cena za chemii.

### 3. Přístroj a jeho parametry

Vzhledem k tomu, že již přes padesát let se vývoji a výrobě analytické ultracentrifugy věnuje zejména firma Beckman Coulter, výčet technologických možností metody je omezen na popis současného typu analytické ultracentrifugy ProteomeLab XL-A/XL-I tohoto výrobce. Z hlediska odstředivé síly lze dosahovat tíhového pole v rozmezí přibližně 60 až 300 000 × g (min. rychlost 1000 ot min<sup>-1</sup>, max. rychlost 60 000 ot min<sup>-1</sup>). Molekulové hmotnosti částic, které tak lze pomocí analytické centrifugy studovat, se pohybují přibližně v rozsahu 100 Da až 10 GDa. Sedimentaci biomakromolekul lze sledovat pomocí dvou nezávislých optických systémů, absorbanční (XL-A) i interferenční optiky (XL-I). Absorbanční optika sestává ze zábleskové xenonové lampy, monochromátoru (200–800 nm), pohyblivé šterbiny a fotonásobiče. V klasickém uspořádání je vzorek umístěn do kyvety se dvěma sektory. Do jednoho je umístěn analyzovaný vzorek, druhý sektor obsahuje kontrolní vzorek, zpravidla pufr, v němž je vzorek rozpuštěn, resp. do něhož je převe-



Obr. 1. Schéma kyvety se dvěma sektory a odpovídajícího sedimentačního záznamu. Roztok vzorku je umístěn do jednoho sektoru a roztok rozpouštědla (zpravidla pufru) po vzájemné rovnovážné dialýze je umístěn do druhého sektoru jako kontrola. Sektor reference se obvykle plní o něco více než sektor vzorku, aby meniskus reference nezakrýval sedimentační profil vzorku. Vzorek působením odstředivé síly sedimentuje směrem ke dnu kyvety a dojde tak k vytvoření sedimentačního rozhraní

den dialýzou. Svazky světla procházejí oběma sektory kyvety rovnoběžně s osou otáčení, štěrbinu umístěná pod kyvetou se pohybuje v radiálním směru (kolmém na osu otáčení, ve směru působení odstředivé síly), výsledkem je tedy závislost absorpance vzorku na poloměru otáčení (obr. 1). Interferenční optika naproti tomu pracuje se dvěma širokými svazky laseru, které procházejí oběma sektory kyvety v celé její radiální šířce. Po průchodu kyvetou dochází k interferenci obou svazků a vzniklé interferenční proužky jsou optickým systémem přeneseny až na CCD kameru. Při sedimentaci vzorku dochází ke změnám indexu lomu světla oproti kontrole, což se projeví zakřivením interferenčních proužků a jejich posunem oproti referenci. Tvar a posun proužků snímáný kamerou lze přímo pozorovat v reálném čase na obrazovce řídicího počítače, obraz je matematicky zpracován metodami Fourierovy transformace a výsledkem je opět závislost posunu interferenčních proužků (která přímo odpovídá změnám koncentrací látek v roztoku) na poloměru otáčení. Absorbanční optika je vhodná především pro sledování sedimentace proteinů (230 či 280 nm) a nukleových kyselin (260 nm), přičemž lze pracovat v koncentračním rozmezí přibližně  $10 \mu\text{g ml}^{-1}$  až  $1 \text{ mg ml}^{-1}$ . Interferenční optiku lze naopak s výhodou využít při studiu neabsorbujících látek, například polysacharidů, nebo koncentrovaných roztoků látek absorbujících. Spotřeba vzorku je typicky  $400 \mu\text{l}$  pro sedimentační rychlost a  $110 \mu\text{l}$  pro sedimentační rovnováhu, přičemž analýza je nedestruktivní a vzorek lze po jejím ukončení odebrat zpět a použít pro jiné účely. Poslední technickou inovací

celého systému a současnou hranicí možností celé metody je sledování fluorescence vzorku, které je nyní možné s komerčně dostupným optickým systémem firmy AVIV Biomedical (Lakewood, USA, [www.avivbiomedical.com](http://www.avivbiomedical.com)).

#### 4. Přehled aplikací

Při studiu chování makromolekul hledáme často odpovědi na následující otázky<sup>2</sup>: Je vzorek homogenní? Jaká je jeho molekulová hmotnost? Pokud je přítomno více druhů molekul, jaká je distribuce jejich molekulových hmotností? Jaká je velikost a tvar makromolekul? Můžeme mezi nimi detegovat vzájemnou interakci a určit její stechiometrii a sílu vazby? Mění se konformace makromolekul? Odpovědi na výše uvedené otázky můžeme získat sedimentační analýzou v analytické ultracentrifuze, a to provedením dvou základních typů experimentů: sedimentační rychlosti a sedimentační rovnováhy, které poskytují komplementární informace. Často je užitečné použít k vyřešení daného problému obou technik zároveň.

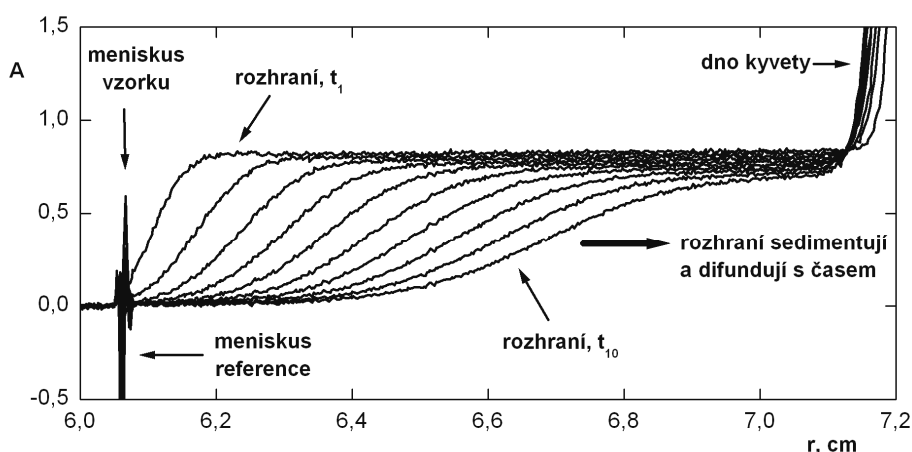
#### 5. Sedimentační rychlost

Měření sedimentační rychlosti je hydrodynamická technika, která je citlivá k hmotnosti a tvaru makromolekul. Při použití dostatečně velké odstředivé síly za vysokých otáček se začnou všechny makromolekuly stejnoměrně pohybovat směrem ke dnu kyvety. Vytvoří se tak pohybující se rozhraní (angl. termín „boundary“) mezi sedimentujícími makromolekulami a oblastí roztoku, ve které se již nenacházejí (obr. 2). Toto rozhraní se pohybuje od menisku směrem ke dnu kyvety a rychlost tohoto pohybu je sledována sérií snímků. Vlivem difuze však zároveň dochází k rozmývání rozhraní, což se na snímcích projeví změnou jeho tvaru. Z rychlosti pohybu a tvaru rozhraní tak lze určit sedimentační a difuzní koeficient dané makromolekuly. Sedimentační koeficient makromolekuly  $s$  je určen jejími molekulárními parametry vyjádřenými ve Svedbergově rovnici<sup>2,3</sup>:

$$s = u/\omega^2 r = M(1 - \bar{v}\rho)/N_A f = MD(1 - \bar{v}\rho)/RT$$

kde je  $u$  pozorovaná radiální rychlost pohybu makromolekuly,  $\omega^2$  úhlová rychlost rotoru,  $r$  vzdálenost od osy otáčení,  $\omega^2 r$  odstředivá síla,  $M$  molekulová hmotnost,  $\bar{v}$  parciální specifický objem molekuly,  $\rho$  hustota roztoku,  $N_A$  Avogadrova konstanta,  $f$  frikční koeficient,  $D$  difuzní koeficient a  $R$  univerzální plynová konstanta;  $k$  úpravě rovnice do tvaru na pravé straně bylo použito vztahu  $D = RT/N_A f$ . Hodnota sedimentačního koeficientu se běžně udává v jednotkách Svedberg (S), přičemž 1 S odpovídá  $10^{-13}$  s. Hodnotu frikčního koeficientu pro hladkou, kompaktní kulovitou částici můžeme určit pomocí Stokesova zákona jako  $f_0 = 6\pi\eta R_0$ , kde  $f_0$  je frikční koeficient sférické částice,  $\eta$  je viskozita roztoku a  $R_0$  je poloměr koule. Můžeme pak kombinovat Svedbergovu a Stokesovu rovnici, v níž je poloměr koule  $R_0$  vyjádřen jako  $(3M\bar{v}/4\pi N_A)^{1/3}$  do tvaru:

$$s_{\text{koule}} = [M(1 - \bar{v}\rho)]/[N_A 6\pi\eta (3M\bar{v}/4\pi N_A)^{1/3}]$$



Obr. 2. **Měření sedimentační rychlosti.** Soubor deseti snímků byl zaznamenán analytickou ultracentrifugou ProteomeLab XL-I s použitím absorbanční optiky při 280 nm. První a poslední snímek je označen  $t_1$  a  $t_{10}$ , časový rozdíl mezi jednotlivými křivkami činí 25 min. První křivka zaznamenaná po 25 min sedimentace již vykazuje mírné rozmytí v důsledku difuze, které se zvětšuje během měření vzorku (40 kDa rekombinantní NK buněčný receptor rClrb, 45 000 ot min<sup>-1</sup>)

Dosadíme-li za všechny konstanty číselné hodnoty ( $\eta$  pro vodu při 20 °C), získáme sedimentační koeficient koule vyjádřený pouze pomocí  $M$ ,  $\bar{v}$  a  $\rho$  (v jednotkách:  $M - \text{Da}$ ,  $s - \text{S}$ ,  $\bar{v} - \text{ml g}^{-1}$  a  $\rho - \text{g ml}^{-1}$ ):

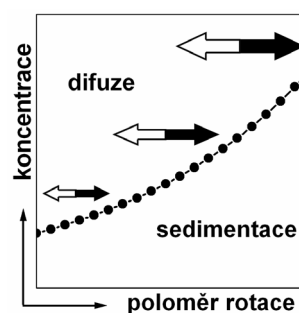
$$s_{\text{koule}} = 0,012[M^{2/3}(1 - \bar{v}\rho)]/\bar{v}^{1/3}$$

Tato hodnota sedimentačního koeficientu je maximální možná hodnota, kterou lze získat pro protein o dané hmotnosti, protože koule má nejmenší plochu povrchu v kontaktu s rozpouštědlem a tedy i nejmenší frikční koeficient  $f_0$ . Pro účely srovnání dat z různých laboratoří či různých experimentálních podmínek je třeba převést určenou hodnotu sedimentačního koeficientu do standardního stavu vody a 20 °C  $s_{20,v}$ . Poměr maximálního a pozorovaného sedimentačního koeficientu  $s_{\text{koule}}/s_{20,v}$  je roven poměru pozorovaného a minimálního frikčního koeficientu,  $ff_0$ , což udává maximální možnou odchylku od tvaru koule. Toho lze využít pro odhad velikosti a tvaru částice, jak bude ukázáno v následujícím příkladu. Pro jednoduchost uvažujme sedimentaci pouze jednoho druhu částic. Jakmile byla určena hodnota  $s_{20,v}$ , můžeme se ptát: je tato hodnota konzistentní s molární hmotností sekvence monomeru proteinu? Pomocí rovnice pro výpočet  $s_{\text{koule}}$  můžeme určit maximální hodnotu  $s_{20,v}$  pro jeho monomer. Pokud je pozorovaná hodnota  $s_{20,v}$  výrazně vyšší, protein není monomerní, zatímco nižší hodnota naznačuje protáhlý tvar monomerního proteinu (vyšší  $ff_0$ ). Předpokládejme, že máme protein o molární hmotnosti 50 kDa a získali jsme hodnotu sedimentačního koeficientu  $s_{20,v}$  5,87 S. Na základě molární hmotnosti monomeru proteinu jsme vypočítali maximální hodnotu  $s_{20,v}$  jako 4,93 S. Pozorovaný  $s_{20,v}$  je zjevně mnohem vyšší než teoretická hodnota pro monomer proteinu tvaru koule, což svědčí o tvorbě větší částice. Dimer proteinu by měl teoretické  $s_{20,v}$  7,77 S. Poměr  $s_{\text{koule}}/s_{20,v}$  určuje asymetrii proteinu  $ff_0$ , a pro výše uvedený příklad dostáváme  $ff_0 = 1,33$ , což odpovídá protáhlému rotačnímu

elipsoidu s rozměry os 17,3 nm (2a) a 4,3 nm (2b). Z jednoho experimentu tak lze získat poměrně velké množství informací, v současnosti i o rovnovážných reakcích<sup>4</sup>.

## 6. Sedimentační rovnováha

Sedimentační rovnováha je termodynamická technika, která je citlivá k hmotnosti, ale ne ke tvaru makromolekul<sup>2,3</sup>. V tomto experimentu je vzorek centrifugován při nižších otáčkách, rozpuštěné látky sedimentují ke dnu kyvety a jak se zde jejich koncentrace zvyšuje, difuze začíná působit proti sedimentaci. Po jistém čase se tyto dva protikladné procesy dostanou do vzájemné rovnováhy a koncentrační profil se již dále nemění (obr. 3). Pro analýzu stačí 1–10  $\mu\text{g}$  proteinu, tedy množství srovnatelné s nanáškou na gelovou elektroforézu. Nejdůkladnější pří-



Obr. 3. **Schématické znázornění procesů při sedimentační rovnováze.** Tok rozpuštěných částic v důsledku sedimentace (černá šipka) vzrůstá s poloměrem rotace. Tento proces je za rovnováhy vyrovnán tokem částic vlivem difuze (bílá šipka), která vzrůstá s gradientem koncentrace

stup k analýze sedimentační rovnováhy vychází z termodynamiky – za rovnováhy je celkový potenciál roztoku ve všech místech kyvety stejný. Z jednoduššího mechanického úhlu pohledu nepozorujeme žádný celkový tok částic v roztoku. Lze ukázat, že pro jedinou, ideální, neasociující částici platí<sup>2</sup>:

$$M = 2RT/[(1 - \bar{v}\rho)\omega^2] d(\ln c)/dr^2$$

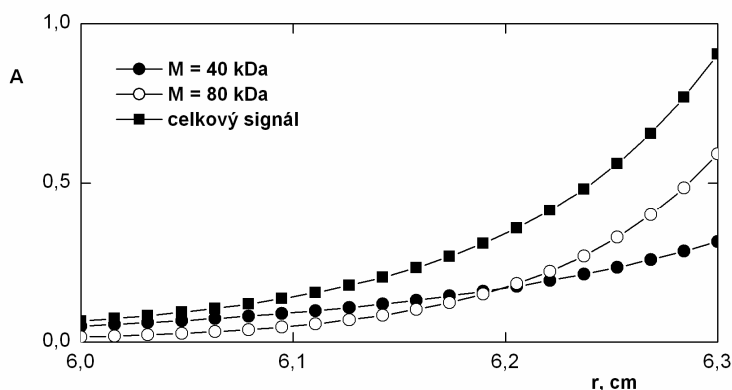
kde je  $M$  molární hmotnost částice (v g mol<sup>-1</sup>),  $\omega$  úhlová rychlost rotoru a  $c$  koncentrace částic (v g dm<sup>-3</sup>) v radiální vzdálenosti  $r$  od osy otáčení; a tedy graf závislosti  $\ln c$  vs.  $r^2$  pro jedinou, ideální částici v sedimentační rovnováze bude mít směrnici přímo úměrnou  $M$ .

Sedimentační rovnováha je jedna z nejlepších metod určování molekulové hmotnosti makromolekul<sup>2</sup>. Je použitelná pro širokou škálu molekulových hmotností, od sacharózy ( $M_r = 360$ ) až po viry ( $M_r =$  mnoho milionů). Pomocí sedimentační rovnováhy provedené ve fyziologických puffrech lze určit molekulové hmotnosti stabilních nativních oligomerů proteinů či proteinových komplexů, zatímco při použití denaturujících roztoků chaotropních činidel, např. močoviny či guanidin hydrochloridu o vysoké koncentraci, lze určit hmotnost podjednotek. Pokud jsou v roztoku navzájem neinteragující částice o různé molekulové hmotnosti (směs několika různých proteinů), je výsledná pozorovaná distribuce částic superpozicí křivek rovnovážné distribuce jednotlivých složek směsi (obr. 4). Toho lze využít např. při charakterizaci čistoty a homogeneity proteinového preparátu. Skutečným vrcholem využití sedimentační rovnováhy je studium reverzibilních rovnovážných asociačních reakcí<sup>3,5</sup>, kdy koncentrace všech komponent systému splní podmínky jak sedimentační, tak chemické rovnováhy, ve všech bodech kyvety. Lze sledovat reakce vedoucí k tvorbě oligomerů téže částice (např. monomer-dimer) i heterogenní interakce, kdy dvě či více částic reverzibilně tvoří komplex s definovanou stechiometrií a asociační konstantou v rozpětí řádů přibližně 10<sup>4</sup> až 10<sup>8</sup>.

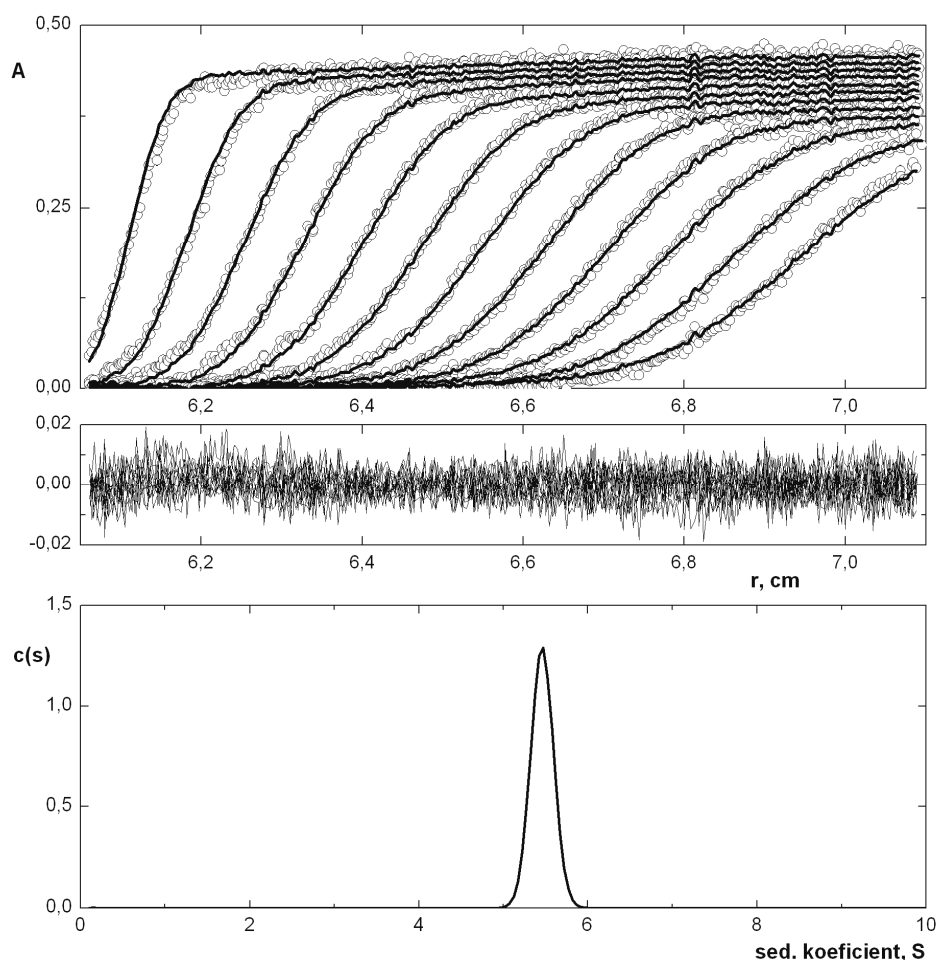
## 7. Analýza sedimentačních dat

Ačkoliv pokročilé matematické teorie popisující experimenty sedimentační rychlosti a rovnováhy mohou být poměrně složité, existuje dnes mnoho sofistikovaných a přitom uživatelsky snadno přístupných programů, které umožňují analýzu dat a jejich vyhodnocení i neodborným uživatelům. Jejich přehled spolu s popisem jejich aplikací lze nalézt v literatuře<sup>3,6</sup>. Kromě experimentálních proměnných (počet otáček, teplota) je pro přesnou analýzu nezbytné znát také hustotu a viskozitu použitého pufru a parciální specifický objem analyzované makromolekuly. Obě tyto veličiny lze sice stanovit experimentálně, z praktických důvodů jsou ovšem zpravidla aproximovány z tabulovaných hodnot dle složení pufru a aminokyselinové sekvence, nejčastěji pomocí programu SEDNTERP<sup>7</sup>. Díky rozvoji výpočetní techniky se dnes nejvíce uplatňuje přímé proložení experimentálních bodů sedimentačních rozhraní funkcí vycházející z řešení Lammovy rovnice, která popisuje toky částic v sektorové kyvetě v odstředivém poli, s následnou nelineární regresí metodou nejmenších čtverců<sup>3</sup>. Tento přístup je závislý na modelu – snažíme se experimentální data co nejlépe popsat pomocí modelů jako jediná ideální částice, rovnováha monomer-dimer,  $A + B \rightleftharpoons AB$ , atp. a je třeba rozhodnout, který model vysvětluje získaná sedimentační data nejlépe. Na našem pracovišti se nejlépe osvědčila dvojice programů Sedfit<sup>8</sup> a Sedphat<sup>9</sup>.

Jednoduchým způsobem analýzy sedimentačního rychlostního experimentu je použit výnos distribuce sedimentačního koeficientu  $c(s)$ , jak je znázorněno na příkladu analýzy pomocí programu Sedfit (obr. 5). Roztok rekombinantní rozpustné formy potkaního NK buněčného receptoru NKR-P1B s FcHis kotvou (cca 110 kDa glykosylovaný kovalentní dimer proteinu) o koncentraci 1 mg ml<sup>-1</sup> byl centrifugován při 20 °C a 36 000 ot min<sup>-1</sup> po dobu 5 h a každých 5 min byl zaznamenán jeho sedimentační profil



Obr. 4. Sedimentační rovnováha směsi dvou různých makromolekul. Data byla simulována pro neinteragující ideální částice o hmotnosti 40 kDa a 80 kDa při 15 000 ot min<sup>-1</sup> a  $\bar{v} = 0,73$  ml g<sup>-1</sup> pro obě částice. Celkový měřený signál směsi je součtem překrývajících se dílčích signálů rovnováh jednotlivých komponent směsi

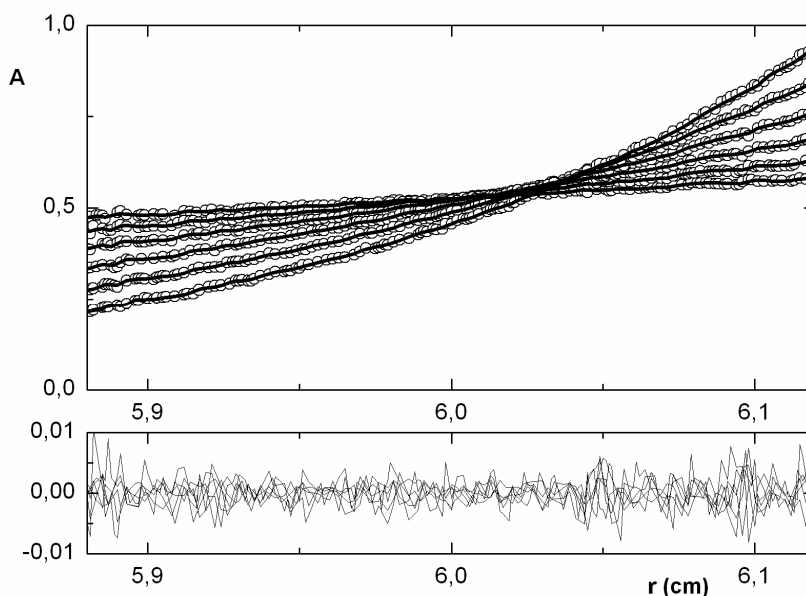


Obr. 5. Ukázka analýzy dat ze sedimentační rychlosti programem Sedfit. Nahoře: soubor změřených sedimentačních profilů vzorku (kroužky, pro srozumitelnost zobrazen pouze každý pátý snímek) a výsledek jejich modelování dle Lammovy rovnice (křivky). Uprostřed: zbytkový graf ukazující přesnost modelování. Dole: distribuce sedimentačního koeficientu v analyzovaném vzorku. Podrobný popis uveden v textu

jako absorbance při 300 nm (obr. 5, nahoře, kroužky, pro srozumitelnost zobrazen pouze každý pátý snímek). S tímto souborem dat bylo poté v programu Sedfit provedeno modelování dle Lammovy rovnice s následnou nelineární regresí funkce včetně uplatnění korekcí pro vyloučení optických artefaktů (obr. 5, nahoře, křivky). Parciální specifický objem proteinu a hustota pufru byly aproximovány programem SEDNTERP. Kvalitu výsledného modelu analýzy lze posoudit z tzv. zbytkového grafu (angl. termín „residual plot“) ukazujícího rozdíl mezi hodnotami naměřené absorbance a výsledného modelu (obr. 5, uprostřed), přičemž známkou dobrého modelu je náhodné rozložení hodnot kolem nuly s amplitudou odpovídající úrovni experimentálního šumu (pro absorbanční data asi 0,01) a absence systematických odchylek u všech křivek. Výsledkem celé analýzy je graf distribuce sedimentačního koeficientu  $c(s)$ , který ukazuje zastoupení částic o daném sedimentač-

ním koeficientu v analyzovaném vzorku s intervalem spolehlivosti 95 % (obr. 5, dole). Integrací plochy pod vrcholem distribuce dostaneme hodnotu pozorovaného sedimentačního koeficientu,  $5,46 \pm 0,12$  S, která dobře odpovídá očekávané velikosti dimerního proteinu.

V případě sedimentační rovnováhy je přímým výstupem molekulová hmotnost, pro rovnovážné systémy je třeba navíc získat data z různých otáček při různých koncentracích a poměrech studovaných látek. Pro jednoduchý systém, jakým je roztok čistého proteinu, který sedimentuje jako ideální částice, je analýza poměrně jednoduchá (obr. 6). Roztok lysozymu o koncentraci  $0,15 \text{ mg ml}^{-1}$  byl centrifugován při  $20^\circ \text{C}$  postupně při 9000, 12 000, 15 000, 18 000, 21 000 a 24 000  $\text{ot min}^{-1}$  vždy 18 h a poté byla zaznamenána jeho rovnovážná distribuce při daném počtu otáček jako absorbance při 280 nm (obr. 6, nahoře, kroužky). S tímto souborem dat byla poté v programu Sed-



Obr. 6. Ukázka analýzy dat ze sedimentační rovnováhy programem Sedphat. Nahore: soubor změřených sedimentačních profilů vzorku (kroužky) a výsledek jejich modelování (křivky). Dole: zbytkový graf ukazující přesnost modelování. Podrobný popis uveden v textu

phat provedena globální analýza pro model jedné ideální částice s uplatněnými korekcemi pro vyloučení optických artefaktů (obr. 6, nahore, křivky); parciální specifický objem lysozymu a hustota pufru byly aproximovány programem SEDNTERP. Kvalitu výsledného modelu analýzy lze opět posoudit ze zbytkového grafu (obr. 6, dole). Výsledkem celé analýzy je hodnota molekulové hmotnosti, která byla v tomto případě vypočtena jako  $14\,163 \pm 175$  Da s intervalem spolehlivosti 95 %. Molekulová hmotnost lysozymu je  $14\,305$  Da, je ovšem třeba si uvědomit, že vypočtená molekulová hmotnost silně závisí na predikci parciálního specifického objemu, a proto je třeba uvažovat přesnost spíše v řádu několika set Da.

Program Sedphat navíc umožňuje globální modelování více experimentů současně (sedimentačních rovnováh, rychlostí i dat z dynamického rozptylu světla), obsahuje řadu matematických modelů a lze ho tak použít k analýze i poměrně složitých systémů. Správnost zvoleného modelu lze posoudit jednak ze zbytkového grafu, kdy systematické odchylky poukazují např. na probíhající rovnovážnou reakci, asociaci či neideální chování zkoumaného systému, a také pomocí statistických metod<sup>2,3,6</sup>.

## 8. Příklady analýz

Také jste se asi ve škole při hodině biologie podívali, jak je možné, že se naše ribozomy skládají ze dvou podjednotek, 40S a 60S, které dohromady tvoří celý ribozom 80S – a nikoli 100S, jak by se dalo ze součtu „velikostí“ podjednotek očekávat. Toto je asi nejznámější příklad využití analytické ultracentrifugy, se kterým se

jistě potkal téměř každý student přírodních věd. V hodnotách sedimentačních koeficientů je totiž ukryta informace jak o hmotnosti, tak tvaru a proto je nelze „sčítat“. V současnosti se analytická ultracentrifugace uplatňuje především při studiu biomakromolekul a jejich komplexů na jedné straně a při rutinní kontrole kvality biofarmaceutik na straně druhé<sup>10</sup>. V případě monoklonálních protilátek se jedná především o kontrolu homogenity preparátu – a právě to je ideální použití pro metodu sedimentační rychlosti, která je citlivá i vůči malému množství přítomných agregátů<sup>11</sup>. Navíc lze měření provést přímo v roztoku, v jakém bude preparát prodáván, a to i opakovaně po jeho delším skladování. Z komerčního hlediska je to nyní pro analytickou ultracentrifugu patrně dominantní oblast využití.

Aplikace analytické ultracentrifugace ve vědě a výzkumu jsou nesčetné, už roku 1999 konstatují Cole a Hansen ve svém výborném přehledu<sup>6</sup>, že jejich kompletní seznam nelze zprostředkovat, přesto vybírají alespoň ty nejdůležitější. Zapátráme-li v současné literatuře, zjistíme, že analytická ultracentrifugace významně přispěla např. ke studiu oligomerizace tubulinu<sup>12</sup>, která je dynamicky regulována pomocí proteinů asociovaných s mikrotubuly, studovaných analytickou ultracentrifugací, izotermální titrační kalorimetrií a NMR<sup>13</sup>. Časté je využití ve strukturální biologii pro ověření, zda oligomerní stav molekuly pozorovaný v krystalu je také tvořen za nativních podmínek v roztoku, jako např. při studiu krystalové struktury proteinu m153 myšího cytomegaloviru, který imituje přirozené MHC-I molekuly napadené buňky a přispívá tak k úniku viru před imunitní odpovědí<sup>14</sup>. Podobně i studium struktury bakteriálních Lon proteas využívá kombinace dat



z analytické ultracentrifugy a elektronové mikroskopie, popisujících nativní oligomery, a z krystalových struktur jednotlivých zkrácených domén Lon proteas k rekonstrukci struktury celé molekuly<sup>15</sup>. Pěkný příklad využití sedimentační rovnováhy pro studium protein-proteinových interakcí nabízí práce K. F. Tóthové o asociaci histonového chaperonu proteinu NAP1 („Nucleosome Assembly Protein 1“) a jeho komplexech s histony<sup>16</sup>. Při studiu samo-asociace apolipoproteinů E3 a E4 (které jsou geneticky spojeny s Alzheimerovou chorobou a aterosklerózou) bylo využito série delečních mutantů a sedimentační rychlosti i rovnováhy k určení závislosti deagregace těchto proteinů na přítomnosti lipidů<sup>17</sup>. Příklad využití fluorescenčního detekčního systému nabízí např. studium oligomerizace p53 proteinu<sup>18</sup> nebo studium lipidy indukované tvorby tetrameru apolipoproteinu C-II, vedoucí k tvorbě amyloidových vláken<sup>19</sup>.

V září roku 2009 se ve švédské Uppsale konalo u příležitosti 125. výročí narození Theodora Svedberga mezinárodní symposium o analytické ultracentrifugaci a k této příležitosti bylo také vytvořeno speciální číslo časopisu *Macromolecular Bioscience*<sup>20</sup>, v němž je možno nalézt mnoho aktuálních informací a příkladů aplikace této metody. V naší laboratoři jsme využili této techniky pro objasnění nativního stavu leukocytárního antigenu CD69<sup>21,22</sup> i dalších námi studovaných receptorů (obr. 2, 5 a 6).

## 9. Závěr

Analytická ultracentrifugace je velice užitečná technika, která umožňuje charakterizovat chování makromolekul přímo v roztoku za nativních podmínek z hlediska jejich hydrodynamických a termodynamických vlastností, a to bez nutnosti interakce s jakoukoliv maticí či povrchem. Po delší odmlce během druhé poloviny dvacátého století prožívá nyní tato metoda svou renesanci, a to díky dostupnosti moderních přístrojů a zároveň dříve nemyslitelného rychlého a výkonného zpracování získaných dat počítačem. Ve spojení se současnými metodami analýzy sedimentačních dat jsou experimenty prováděné v analytické ultracentrifuge schopné důkladně prověřit čistotu vzorku, charakterizovat mechanismy vzniku a zániku makromolekulárních komplexů, určit stechiometrii podjednotek, detegovat a charakterizovat změny v konformacích makromolekul a měřit rovnovážné konstanty a termodynamické parametry samo- i hetero-asociujících systémů. Je to vhodná metoda pro určování molárních hmotností za nativních podmínek a jedna z klíčových metod pro studium interakcí mezi makromolekulami, jako jsou interakce protein-protein, protein-nukleová kyselina a protein-malá molekula. Zásluhou podpory, kterou rozvoji této experimentální techniky věnovalo vedení chemické sekce UK PĚF v Praze, je nyní tato experimentální technika ve svém moderním provedení dostupná i pro uživatele v České republice. Případní zájemci o možnosti využití této experimentální techniky mohou získat další informace u autorů, nebo prostřednic-

tvím webových stránek katedry biochemie UK PĚF <http://www.natur.cuni.cz/chemie/biochem/služby>.

*Zakoupení a provoz analytické ultracentrifugy ProteomeLab XL-I (Beckman Coulter) bylo umožněno finanční podporou chemické sekce Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze a MŠMT ČR (projekty MSM 21620808 a 1M0505).*

## LITERATURA

1. [http://nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/1926/svedberg-bio.html](http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1926/svedberg-bio.html), staženo 22.6.2010.
2. <http://www.beckmancoulter.com/Literature/BioResearch/361847.pdf>, staženo 22.6.2010.
3. Lebowitz J., Lewis M. S., Schuck P.: *Protein Sci.* 11, 2067 (2002).
4. Brown P. H., Balbo A., Schuck P.: *Eur. Biophys. J.* 38, 1079 (2009).
5. <http://www.beckmancoulter.com/Literature/BioResearch/362784.pdf>, staženo 22.6.2010.
6. Cole J. L., Hansen J. C.: *J. Biomol. Tech.* 10, 163 (1999).
7. <http://www.jphilo.mailway.com/download.htm>, staženo 22.6.2010.
8. Schuck P.: *Biophys. J.* 78, 1606 (2000); program dostupný z <http://www.analyticalultracentrifugation.com/default.htm>, staženo 22.6.2010.
9. Schuck P.: *Anal. Biochem.* 320, 104 (2003); program dostupný z <http://www.analyticalultracentrifugation.com/sedphat/default.htm>, staženo 22.6.2010.
10. Berkowitz S. A.: *AAPS J.* 8, 590 (2006).
11. Brown P. H., Balbo A., Schuck P.: *AAPS J.* 10, 481 (2008).
12. Correia J. J.: *Methods Cell Biol.* 95, 275 (2010).
13. Devred F., Barbier P., Lafitte D., Landrieu I., Lippens G., Peyrot V.: *Methods Cell Biol.* 95, 449 (2010).
14. Mans J., Natarajan K., Balbo A., Schuck P., Eikel D., Hess S., Robinson H., Simic H., Jonjic S., Tiemessen C. T., Margulies D. H.: *J. Biol. Chem.* 282, 35247 (2007).
15. Duman R., Löwe J.: *J. Mol. Biol.* (2010), doi: 10.1016/j.jmb.2010.06.030.
16. Tóth K. F., Mazurkiewicz J., Rippe K.: *J. Biol. Chem.* 280, 15690 (2005).
17. Chou C. Y., Jen W. P., Hsieh Y. H., Shiao M. S., Chang G. G.: *J. Biol. Chem.* 281, 13333 (2006).
18. Brandt T., Petrovich M., Joerger A. C., Vepintsev D. B.: *BMC Genomics* 10, 628 (2009).
19. Ryan T. M., Howlett G. J., Bailey M. F.: *J. Biol. Chem.* 283, 35118 (2008).
20. Cölfen H.: *Macromol. Biosci.* 10 (2010), doi: 10.1002/mabi.201000201.
21. Vaněk O., Nálezková M., Kavan D., Borovičková I., Pompach P., Novák P., Vinay K., Vannucci L., Hudeček J., Hofbauerová K., Kopecký V. Jr., Brynda J.,

- Kolenko P., Dohnálek J., Kadeřávek P., Chmelík J., Gorčík L., Židek L., Sklenář V., Bezouška K.: *FEBS J.* 275, 5589 (2008).
22. Kavan D., Kubíčková M., Bílý J., Vaněk O., Hofbauerová K., Mrázek H., Rozbeský D., Bojarová P., Křen V., Židek L., Sklenář V., Bezouška K.: *Biochemistry* 49, 4060 (2010).

**O. Vaněk<sup>a</sup> and K. Bezouška<sup>a,b</sup>** (<sup>a</sup> *Department of Biochemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague,* <sup>b</sup> *Institute of Microbiology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic*): **Analytical Ultracentrifuge and Its Utilization in Biochemical Laboratory**

Sedimentation analysis of macromolecules carried out with analytical ultracentrifuge is a powerful method for the study of proteins, nucleic acids and other polymers and their various complexes. Monitoring sedimentation of macromolecules in the centrifugal field allows their hydro-

dynamic and thermodynamic characterization in solution, i.e. in native conditions, without interactions with any matrix or surface. This allows direct measurement of molecular weight and sedimentation coefficient of macromolecules, monitoring of sample purity and homogeneity, prediction of size and shape of sedimenting species and, last but not least, study of equilibrium reactions, including determination of their stoichiometry and equilibrium constants. In the present review, we first focused on the history of the technique and properties and potentials of a modern instrument. Two types of experiments performed using analytical ultracentrifuge, sedimentation velocity and equilibrium, are discussed, together with a brief introduction into sedimentation theory. In the end, sedimentation data analysis is discussed and some examples of utilization of analytical ultracentrifugation are provided. Combination of new instrumentation and computational software for data analysis has led to major advances in characterization of proteins and their complexes. After temporary silence in the past decades, analytical ultracentrifugation at present experiences renaissance in proteomic research.

## CHELÁTÝ PRO VYUŽITÍ V BIOMEDICÍNSKÝCH OBORECH

JAN KOTEK\* a IVAN LUKEŠ

Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra anorganické chemie, Hlavova 2030, 128 40 Praha 2  
lukes@natur.cuni.cz

Došlo 1.7.10, přijato 6.9.10.

Klíčová slova: koordinační sloučeniny, ligandy, magnetická rezonance, radiomedicína, kontrastní látky, gadolinium, gallium, značení buněk

## Obsah

1. Úvod
2. Kontrastní látky pro magnetickou rezonanci
3. Komplexace radionuklidů v PET
4. Duální kontrastní látky
5. Cílení (targeting) léčiv
6. Závěr

*Koordinační chemie a chemie chelátů má na chemických katedrách Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze velkou tradici. Je třeba vzpomenout doc. Rudolfa Přibila z ústavu analytické chemie, který záhy po představení kyseliny ethylendiamintetraoctové (EDTA) Geroldem Schwarzenbachem rozeznal rozsáhlé možnosti těchto látek a spolu se svými kolegy vypracoval celou řadu analytických metod. Na katedře anorganické chemie to byl prof. Stanislav Škramovský, první, kdo u nás zavedl koordinační chemii jako samostatný předmět do výuky studentů. V té novodobější historii lze připomenout prof. Jaroslava Podlahu, který syntetizoval řadu fosfanových analogů aminopolykarboxylových kyselin (tj. ligandů kombinujících tvrdé a měkké donorové atomy) s cílem připravit ligandy pro měkké Lewisovy kyseliny. Autoři chtějí uvedený článek věnovat těmto svým předchůdcům a ukázat na rozvoj oboru koordinační chemie a s ní související chemie chelátů v oblasti biomedicínských aplikací.*

## 1. Úvod

Lékařská diagnostika a lékařský výzkum směřují stále více od čistě anatomického zobrazování k získávání informací o biochemickém stavu určité tkáně až na molekulární úrovni. Moderní diagnostické zobrazovací metody jsou

neinvasivní a jsou založeny na různých fyzikálně-chemických principech. Běžně používanou metodou je zobrazování magnetickou rezonancí (MR, v zahraničí označované též MRI z anglického magnetic resonance imaging). Je založeno na změně chování jader atomů vodíku  $^1\text{H}$  (přítomných v molekule vody), umístěných v silném vnějším magnetickém poli. Absorpce radiofrekvenčního záření se jádra vodíku dostanou do excitovaného stavu. Poté se díky relaxačním procesům vracejí do původního stavu a uvolňují přitom absorbovanou energii ve formě elektromagnetického záření, které je detegováno. Další dvě metody využívají radioaktivní záření – jednofotonová emisní počítačová tomografie (single-photon emission computed tomography, SPECT) a pozitronová emisní tomografie (positron emission tomography, PET). U obou se získává prostorová informace díky lokalizaci rozdílného množství radioaktivity v různých tkáních. Záření je detegováno pomocí detektorů umístěných okolo těla pacienta, podobně jako u prostorového zobrazování pomocí RTG záření, tj. počítačové tomografie (computed tomography, CT). Metoda SPECT snímá  $\gamma$ -záření přímo emitované radioizotopem, zatímco PET deteguje dva kolineární  $\gamma$ -fotony vzniklé anihilací pozitronu emitovaného radioizotopem. Metoda SPECT je schopna detegovat  $\gamma$ -záření různých energií emitované mnoha různými izotopy; nejčastěji se používá  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ . Prostorové rozlišení metody je asi  $0,5\text{ cm}^3$ . V posledních letech se výrazně snížily ceny tomografů typu PET a tato metoda se stává metodou první volby v nukleární medicíně pro detekci nádorů a poškození tkání. Tato metoda má vysokou citlivost – je schopna detegovat už pikomolární koncentrace izotopu (tj.  $10^{-12}\text{ mol l}^{-1}$ ) a má také vynikající prostorové rozlišení (v klinickém uspořádání až  $1\text{ mm}^3$ ). Proto se hodí i ke zviditelnění velice malých metastáz. Z izotopů vhodných pro PET je nejčastěji používán  $^{18}\text{F}$ . Tento izotop je poměrně dost drahý, protože musí být připravován pomocí cyklotronu a jeho cena je v dnešní době hlavním faktorem určujícím cenu celé metody. V klinické praxi zatím okrajově, ale o to více v lékařském výzkumu a biologii, se využívá také optických metod (optical imaging, optical methods, OM), založených na luminiscenci/fluorescenci barviva, které je vpraveno do buněk a tkání. Optické metody detegují poměrně nízké koncentrace barviv (méně než mikromolární).

U všech výše zmíněných diagnostických metod se používají tzv. kontrastní látky (contrast agents, CA). U SPECT a PET jsou nezbytné, protože v nich přítomné radioizotopy jsou zdrojem radioaktivního záření. Stejně tak u optických metod je zapotřebí fluoreskující barvivo. Metody CT a MR poskytují obrazy i bez aplikace kontrast-

\* Autor je laureátem ceny Alfreda Badera za chemii bioorganickou a bioanorganickou pro rok 2009.

ních látek; použití CA však podstatně zlepšuje kontrast určitých tkání nebo patologií, a tím i detegovatelnost patologických tkání. Výhodou MR je, že nepoužívá škodlivé ionizující záření a poskytuje nejenom anatomickou informaci, ale i data o funkčním stavu organismu. Obdobně i radioizotopové metody umožňují sledovat fyziologický stav organismu (nejznámějším příkladem je používání glukosy značené izotopem  $^{18}\text{F}$  ke sledování metabolické aktivity tkání pomocí PET).

Pokud jsou tímto způsobem získávány informace o stavu organismu nebo tkáně až na buněčné (např. přítomnost určitého typu buněk) nebo dokonce molekulární úrovni, užívá se v současné době pro tyto metody souhrnný název molekulární zobrazování (molecular imaging, MI). Metody molekulárního zobrazování se používají nejen v medicíně a preklinickém výzkumu, ale i v molekulární biologii.

Dnes používané kontrastní látky jsou buď málo účinné (MR), nebo drahé (PET), a hlavně nesledují moderní vývoj, který směřuje ke kombinaci používaných metod. Současné používání různých zobrazovacích metod totiž vyžaduje multimodální kontrastní látky. Vzhledem k vývoji nových přístrojů pro klinickou praxi budou tyto látky zapotřebí během několika málo let.

V uvedených kontrastních látkách je nositelem efektu ion kovu, ať již se jedná o stabilní izotop  $\text{Gd}^{3+}$  pro MR nebo o různé radionuklidy kovů. Jedno mají společné – pro použití *in vivo* musí být tyto ionty pevně vázány v komplexu tak, aby nedošlo k jejich uvolnění působením látek přítomných v organismu. Rozklad komplexu *in vivo* může probíhat transchelatací (vytržením centrálního iontu působením dalších ligandů, kterými mohou být např. aminokyseliny nebo oligopeptidy) nebo transmetalací (nahrazením centrálního iontu jiným (biogenním) iontem, např.  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  apod). Proto musí používaný komplex vykazovat vysokou termodynamickou stabilitu (tj. mít vysokou hodnotu konstanty stability), a zároveň být kineticky inertní (tj. mít velkou aktivační bariéru vedoucí k disociaci, a nerozložit se tak ani za podmínek, za kterých by z termodynamického hlediska neměl existovat). Právě kinetická inertnost je zvláště v případě radiofarmak nejdůležitějším parametrem – je třeba si uvědomit, že vzhledem k extrémně nízkým koncentracím používaných radiofarmak jsou ostatní látky v organismu přítomné v obrovském nadbytku, což usnadňuje možnou transchelataci i transmetalaci. Vedle těchto základních podmínek musí mít kontrastní látky vhodnou distribuci v organismu. U kontrastních látek pro MR jsou ještě další faktory, převážně struktura komplexu, které ovlivňují jejich účinnost. Hledání nových a efektivnějších kontrastních látek je velká výzva pro koordinační chemiky v oblasti designu nových ligandů a studia jejich komplexů.

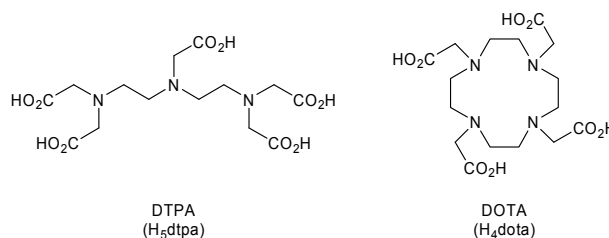
## 2. Kontrastní látky pro magnetickou rezonanci

Fyzikální princip MR vychází z monitorování rozdílné distribuce a vlastností vody ve zkoumaných tkáních

a z prostorové variace magnetických relaxačních časů protonů (času longitudinální – podélné relaxace  $T_1$ , a času transverzální – příčné relaxace  $T_2$ ). Relaxační časy lze významně ovlivnit (zkrátit) přítomností magneticky aktivních sloučenin nebo částic. Různé relaxační časy pak zvyšují kontrast mezi tkáněmi s různou distribucí vody a zlepšují rozlišení vnitřní struktury orgánů. Z fyzikálního hlediska existují dvě skupiny těchto tzv. kontrastních látek (CA) podle procesů, které urychlují.  $T_1$  relaxační časy jsou zkracovány paramagnetickými CA a vytváří tzv. pozitivní kontrast, tj. při použití vhodné pulzní sekvence zvyšují intenzitu detegovaného signálu a „zesvětlují“ tkáň, v nichž je přítomná kontrastní látka.  $T_2$  relaxační časy jsou zkracovány superparamagnetickými CA a vytváří tzv. negativní kontrast, tj. tkáň s jejich výskytem poskytuje nižší signál a jsou „tmavé“<sup>1</sup>. Za první moderní používanou CA je považován gadolinový komplex kyseliny diethylenetriaminpentaocetové (DTPA, viz obr. 1), který byl schválen pro klinické použití v roce 1988. Na druhé straně,  $T_2$ -CA byly vyvinuty později a jsou koncepčně založeny na nanočásticích oxidů železa různé velikosti od několika nanometrů do několika desítek nanometrů<sup>1,2</sup>. Pro aplikace *in vivo* jsou pokryty např. dextrans nebo vrstvou silikagelu a tak je jejich průměr zvětšen až k několika stovek nanometrů.

Podle údajů Americké radiologické společnosti je v celém světě provedeno ročně až sto milionů vyšetření MR a asi v 35–40 % případů se používají CA. V drtivé většině z nich, téměř v 99 %, se používají  $T_1$ -CA založené na komplexech gadolinia. Struktura a vlastnosti komplexů určují vlastnosti takovýchto CA a tak je logické, že se této oblasti chemie věnuje celá řada výzkumných pracovišť a že v této oblasti byla publikována řada monografií<sup>1,3,4</sup> a obecných přehledných článků<sup>5–14</sup>, přehledných článků zaměřených na fyzikální aspekty<sup>15</sup>, struktury v pevném stavu<sup>16,17</sup>, termodynamickou a kinetickou stabilitu<sup>18–20</sup>, prototropickou výměnu<sup>21</sup>, efekt tzv. druhé koordinační sféry<sup>22</sup>, kvantové výpočty<sup>23</sup>, cílené CA<sup>24–27</sup>, makromolekulární CA<sup>28–30</sup>, a multimodální CA<sup>31</sup>.

Trojmocné gadolinium má pro uvedenou metodu klíčový význam. Je to ion, který má nejvyšší možný elektronový spin, a je tedy schopný svými magnetickými vlastnostmi ovlivnit okolí maximálním možným způsobem. Ve své hydratované podobě (přítomné např. ve vodných roztocích jednoduchých solí, jako je  $\text{GdCl}_3$ ) je ion  $\text{Gd}^{3+}$  velice jedovatý. Proto musí být vázán do extrémně stálých kom-



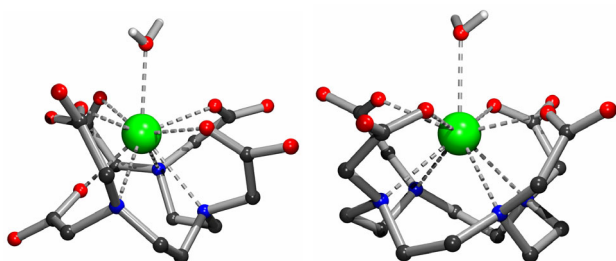
Obr. 1. Struktura ligandů DTPA a DOTA

plexů. V případě klinicky používaných látek se jedná o polyaminopolykarboxylové kyseliny a jejich deriváty. Dva prototypové ligandy označované jako DTPA a DOTA jsou ukázány na obr. 1. Komplex musí být stabilní natolik, aby po nitrožilní aplikaci nedošlo v těle k jeho rozkladu (a tedy k uvolnění vysoce toxického  $\text{Gd}^{3+}$ ). Ve všech klinicky užívaných komplexech je kromě ligandu na centrální ion koordinována právě jedna molekula vody. Tato koordinovaná molekula vody je podstatná pro funkci komplexu jako kontrastní látky, protože se chemicky vyměňuje s molekulami vody v okolí komplexu a tím zprostředkovává přenos magnetické informace z iontu gadolinového na okolní vodu (která je pak detegována v MR obrazech).

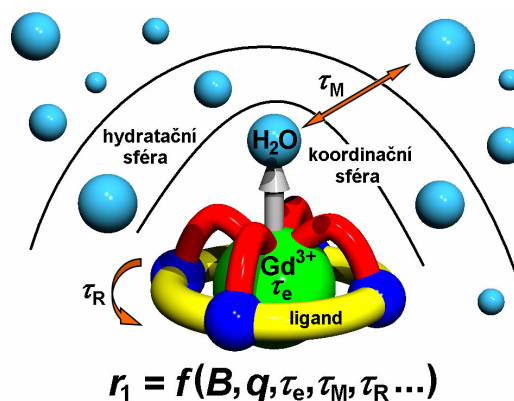
Prostorová struktura komplexů  $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{O})(\text{dtpa})]^{2-}$  a  $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{O})(\text{dota})]^-$  je znázorněna na obr. 2. Ligand centrální ion kovu perfektně „zabalí“ pomocí koordinovaných atomů dusíku a kyslíku a současně ponechává dostatek prostoru, aby se na ion  $\text{Gd}^{3+}$  navázala právě jedna molekula vody. Obecně lze však říci, že komplexy založené na makrocyclickém skeletu (DOTA) jsou mnohem odolnější vůči rozkladu než komplexy lineárních ligandů (DTPA), a proto jsou mnohem šetrnější vůči pacientovi.

Účinnost kontrastních látek je vyjádřena hodnotou relaxivity,  $r_1$  nebo  $r_2$ . Tato veličina vyjadřuje, jak se změní hodnota relaxačních časů  $T_1$  nebo  $T_2$  v přítomnosti kontrastní látky (v praxi je – vzhledem k nejčastěji používaným  $T_1$ -CA založených na gadolinu používána především hodnota podélné relaxivity  $r_1$ , která je definována jako převrácená hodnota relaxačního času  $T_1$  vodního roztoku kontrastní látky o koncentraci gadolinia  $1 \text{ mmol l}^{-1}$ ). Z hlediska fyzikální teorie relaxace je relaxivita veličinou, která závisí na řadě fyzikálně-chemických vlastností molekul kontrastních látek (tzv. „mikroskopických“ parametrech), ale i na řadě vnějších podmínek (tzv. „makroskopických“ parametrech), jako jsou intenzita magnetického pole (magnetická indukce,  $B$ ) používaného v daném tomografu a vlastnosti studovaného vzorku, např. teplota, viskozita roztoku atd.

Běžné kontrastní látky mají relativně nízkou relaxivitu ( $\sim 4\text{--}5 \text{ mmol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ), a teorie relaxace predikuje až  $20\times$  vyšší účinnost. Zlepšení účinnosti lze dosáhnout cíleným „laděním“ jednotlivých fyzikálně-chemických vlastností komplexů. Tyto parametry lze ovlivnit změnou struktury ligandů, a proto jsou design a syntéza nových ligandů spo-



Obr. 2. Prostorová struktura komplexů  $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{O})(\text{dtpa})]^{2-}$  a  $[\text{Gd}(\text{H}_2\text{O})(\text{dota})]^-$

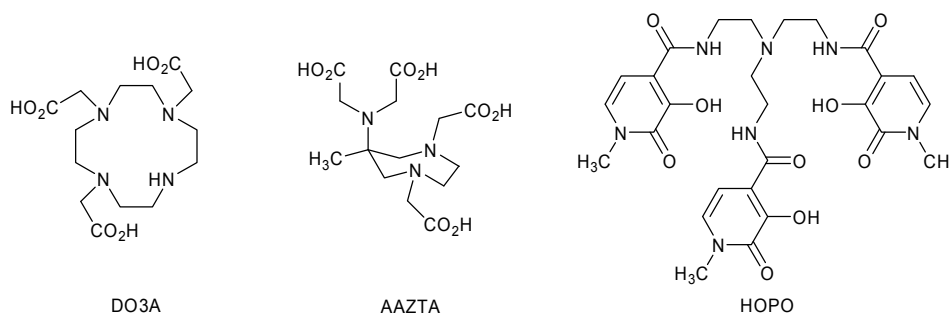


Obr. 3. Mikroskopické parametry ovlivňující relaxivitu gadolinových komplexů

lu se studiem vlastností jejich komplexů významným příspěvkem chemiků v této multidisciplinární oblasti základního výzkumu. Zkoumáním chování komplexů se už více než 20 let zabývá řada akademických a firemních laboratoří a jejich úsilí vedlo k postupnému zvyšování relaxivity komplexů a k vývoji nových kontrastních látek.

Mezi základní „laditelné“ mikroskopické parametry kontrastních látek patří především počet molekul vody koordinovaných k centrálnímu gadolinovému iontu ( $q$ ), rychlost jejich výměny s molekulami vody v roztoku (vyjadřovaná obvykle převrácenou hodnotou odpovídající rychlostní konstanty, tzv. rezidenčním časem koordinované molekuly vody,  $\tau_M$ ), celková hydratace molekul kontrastní látky, a rychlost rotačního pohybu celé molekuly kontrastní látky (charakterizovaná tzv. rotačním korelačním časem  $\tau_R$ ), viz obr. 3. Mimo zmíněné parametry je relaxivita zásadně ovlivňována též relaxačními časy elektronově excitovaných stavů gadolinia ( $\tau_e$ ), nicméně tento parametr není přístupný přímé modulaci (v principu se jedná o vlastnost centrálního atomu, která je pro jednotlivé kontrastní látky různá, ale bohužel ji nelze predikovat, a tudíž ani cíleně ovlivnit volbou ligandu).

Počet koordinovaných molekul vody  $q$  je parametr, jemuž je hodnota relaxivity přímo úměrná. Všechny kontrastní látky používané v klinické praxi obsahují jednu molekulu vody. Koordinační sloučeniny se dvěma koordinovanými molekulami vody by měly teoreticky vykazovat (při stejných hodnotách ostatních parametrů) dvojnásobnou relaxivitu. Jedním z nejjednodušších ligandů je analog DOTA nesoucí pouze tři pendantní acetátové skupiny, tzv. DO3A (obr. 4). Bohužel bylo pozorováno, že za podmínek *in vitro/in vivo* velmi často dochází k nahrazení obou molekul vody jiným – bidentátním – ligandem, např. uhličitanovým nebo fosforečnanovým aniontem, aminokyselina-mi, anionty polykarboxylových kyselin (citrátem) atd.<sup>32,33</sup> Dále bylo pozorováno, že zmenšení vaznosti ligandu (všechny ligandy používané v klinické praxi jsou oktaeden-



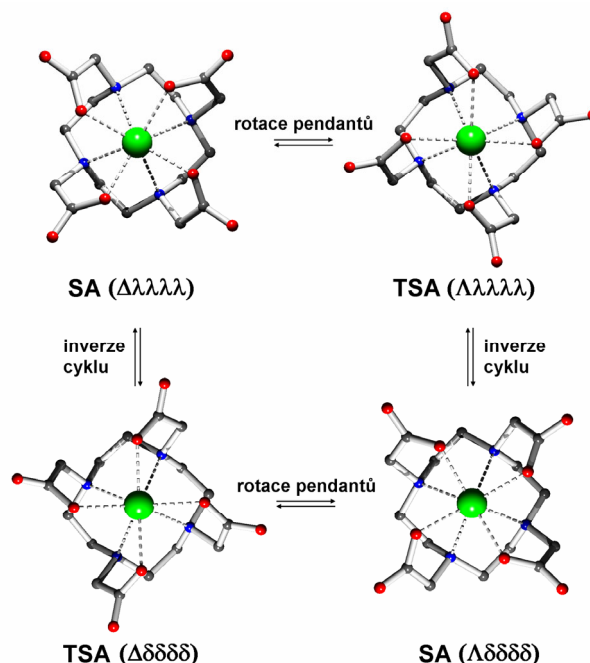
Obr. 4. Ligandy tvořící s trojmocným gadolinem komplexy mající koordinované dvě molekuly vody

tání) z osmi na sedm tak, aby přibýlo nové koordinační místo pro další molekulu vody (typické koordinační číslo gadolinia je 9), vede k velmi významnému poklesu stability těchto komplexů za podmínek *in vivo* a ke značnému nárůstu jejich toxicity. Nicméně jsou vyvíjeny nové ligandové systémy, z nichž nejperspektivnějšími se jeví deriváty skeletů označovaných jako AAZTA a HOPO (obr. 4, cit.<sup>34–36</sup>).

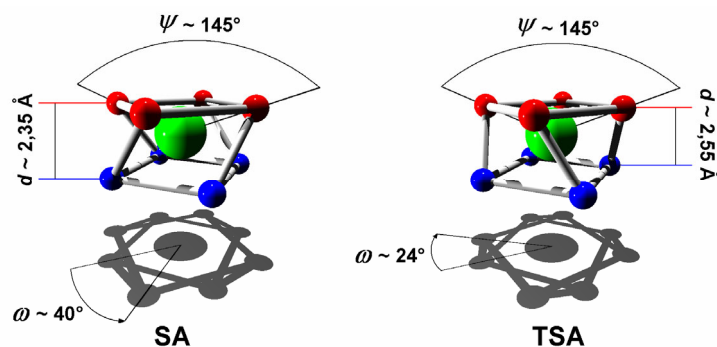
Rychlost výměny vody je dalším velmi důležitým mikroskopickým parametrem určujícím účinnost kontrastních látek. Výměna molekuly vody musí být dostatečně rychlá, aby molekula kontrastní látky zrychlila magnetickou relaxaci co největšího počtu molekul vody v okolí. Zároveň však nesmí být příliš rychlá, aby stačilo dojít k relaxaci magnetického momentu jader vodíku koordinované molekuly vody spřažením s elektronovou relaxací gadolinia. Hodnota rychlosti výměny vody – často vyjadřovaná hodnotou tzv. „rezidenčního času“  $\tau_M$  (obr. 3), tj. délky průměrného trvání koordinační vazby – by tedy měla ležet v optimálním rozmezí. Toto optimum je závislé na intenzitě používaného magnetického pole a v případě nejběžnějších tomografií pracujících při poli 1,5 nebo 3 T činí  $\sim 10$ – $20$  ns, pro přístroje pracující při vyšších polích je hodnota optimálního rezidenčního času poněkud nižší,  $\sim 5$  ns. V praxi používané látky vyměňují koordinovanou molekulu vody značně pomaleji (typicky  $\sim 250$ – $1000$  ns), než je toto požadované optimum. Nicméně je pozorovatelný trend ve vztahu rychlost výměny vs. struktura komplexní částice, který umožňuje provést návrh struktury co neúčinnějších kontrastních látek. Obecně lze říci, že komplexní částice by měly nést záporný náboj – mezielektronová repulze totiž významně destabilizuje koordinaci vody.

V případě látek založených na makrocyclických ligandech pak přistupuje ještě jeden významný faktor – komplexy ligandů typu DOTA se totiž mohou vyskytovat ve dvou diastereoizomerních formách, které se významně liší rychlostí výměny vody. Vznik diastereoizomerů je umožněn dvěma nezávislými zdroji chiralitity molekuly – díky koordinaci makrocyclického skeletu se pětičlenné chelatové kruhy Gd-N-C-C-N mohou vyskytovat v konformaci  $\lambda$  nebo  $\delta$ , a koordinované pendantní skupiny

mohou být zatočeny též dvěma možnými způsoby (tj. mohou mít různou helicitu) –  $\Lambda$  nebo  $\Delta$ . To vede ke vzniku čtyř izomerních forem, které tvoří dva diastereoizomerní páry enantiomerů  $\Lambda\delta\delta\delta\delta/\Delta\lambda\lambda\lambda\lambda$  a  $\Lambda\lambda\lambda\lambda\lambda/\Delta\delta\delta\delta\delta$  (obr. 5). Diastereoizomer  $\Lambda\delta\delta\delta\delta/\Delta\lambda\lambda\lambda\lambda$  vytváří koordinační klec o geometrii čtvercového antiprizmatu (SA, square antiprism, s torzními úhly  $N_4$  a  $O_4$  rovin ( $\omega$ ) blízkými teoretické hodnotě  $45^\circ$ , obr. 6), izomer  $\Lambda\lambda\lambda\lambda\lambda/\Delta\delta\delta\delta\delta$  vytváří zkřížené antiprizmatické okolí (TSA, twisted-square antiprism, torzní úhly  $N_4$  a  $O_4$  rovin ( $\omega$ ) blízké teoretické hodnotě  $22,5^\circ$ , obr. 6). Koordinační dutina TSA izomeru je poněkud vyšší než dutina SA izomeru (obr. 6). Zároveň je



Obr. 5. Strukturální vztahy mezi jednotlivými izomery lanthanoidových komplexů s makrocyclickými ligandy typu DOTA



Obr. 6. Strukturální rozdíly mezi SA a TSA izomery lanthanoidových komplexů s makrocyclickým ligandem DOTA

TSA uspořádání mnohem flexibilnější než uspořádání SA, což vede k řádově rychlejší výměně koordinované molekuly vody na TSA izomeru v porovnání s SA izomerem (díky flexibilitě TSA uspořádání dochází při vibračních pohybech ke sterickému bránění koordinačního místa vody a k jejímu vypuzení z koordinační sféry; po opětovném přerovnění koordinační sféry se pak koordinuje nová molekula vody).

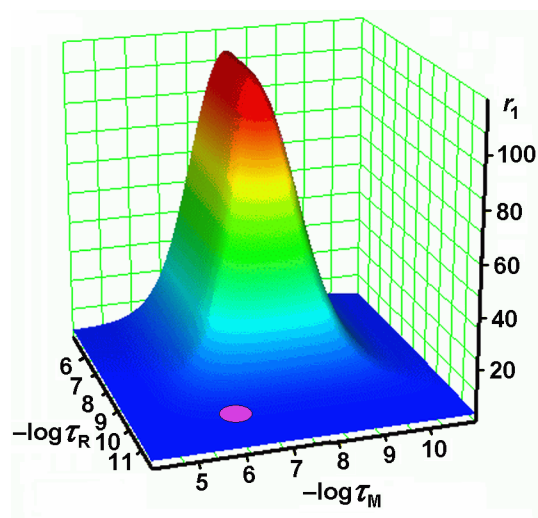
Koordinační uspořádání TSA je preferováno většími ionty ze začátku lanthanoidové řady, ale vzájemné zastoupení TSA/SA izomerů lze pro jednotlivé lanthanoidy modulovat i změnou struktury ligandu – protáhlejší koordinační klec typu TSA je preferována v ligandech mající objemné pendantní skupiny (např. když je acetátová skupina přítomná v ligandu DOTA nahrazena větší methylenfosfonovou nebo methylenfosfinovou skupinou, případně skupinou, která při své koordinaci vytváří šestičlenný chelátový kruh, např. propionátem). Je však třeba zvolit takový ligand, aby byl zajištěn dostatečný prostor pro koordinaci vody. Tento prostor je charakterizován úhlem svíraným mezi centrálním iontem gadolinia a protějšími kyslíkovými donorovými atomy (úhel  $\Psi$ , obr. 6). Tento úhel musí být větší než  $\sim 135^\circ$ .

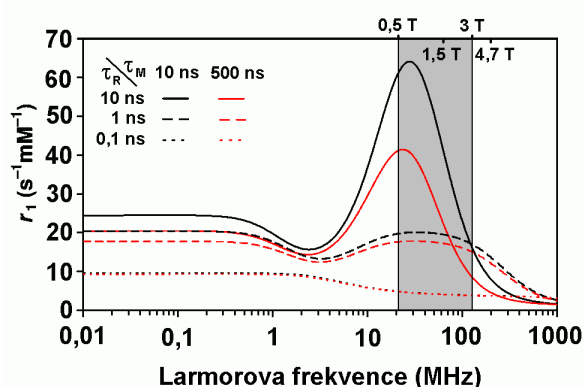
Dalším velmi významným parametrem ovlivňujícím hodnotu relaxivity je tzv. rotační korelační čas  $\tau_R$  (tj. čas popisující rychlost rotace vektoru  $Gd-H_{\text{voda}}$ , obr. 3). Obecně lze říci, že kontrastní látky jsou tím účinnější, čím pomaleji se v roztoku pohybují (závislost relaxivity na rotačním korelačním časem však není přímo úměrná, ale má sigmoidální charakter). Molekuly komerčních kontrastních látek jsou relativně malé, a proto se v roztoku pohybují příliš rychle (typický rotační korelační čas nízkomolekulárních komplexů bývá  $\sim 100$  ps, přičemž teorie vyžaduje hodnoty řádově vyšší, alespoň 3–5 ns). Proto jsou obvykle molekuly nízkomolekulárních kontrastních látek vhodně substituovány tak, aby bylo umožněno jejich navázání na makromolekulární nebo nanokrystalický nosič – např. kovalentní vazbou, nekovalentní (např. hydrofobní) interakcí, chemickou nebo fyzikální sorpcí apod., nebo aby se umožnilo zakotvení komplexů v micelárních strukturách. Tím dochází k významnému zbrždění rotace a nárůstu relaxivity.

Pro kovalentní navázání molekuly kontrastní látky – konjugaci – na vybranou makromolekulu jsou používány tzv. bifunkční ligandy (kromě části sloužící pro komplexaci gadolinia obsahuje molekula ligandu i postranní reaktivní skupinu, která je využita ke konjugaci reakci).

Pro dosažení nejvyšší účinnosti je však nutné současně zkrátit rezidenční čas molekuly vody a prodloužit dobu rotace komplexu – pouhá úprava jednoho z těchto parametrů z hlediska relaxivity nepřináší významný zisk. Nutnost simultánní změny obou parametrů dokresluje teoretický profil relaxivity zobrazený na obr. 7 a 8 (cit.<sup>5</sup>).

V naší pracovní skupině jsme se věnovali výzkumu polydentálních ligandů nesoucích převážně fosfonátovou nebo fosfinátovou pendantní skupinu (obr. 9, cit.<sup>37–41</sup>). Bylo potvrzeno, že komplexy makrocyclických ligandů s oxofosforovou pendantní skupinou vykazují vyšší zastoupení TSA izomeru a velmi rychlou výměnu koordinovaného

Obr. 7. Závislost relaxivity na hodnotách rezidenčního času koordinované molekuly vody  $\tau_M$  a rotačním korelačním časem kontrastní látky  $\tau_R$ . Fialový ovál značí oblast, ve které se nalézají parametry komerčně používaných CA



Obr. 8. Závislost relaxivity na hodnotách intenzity použitého magnetického pole (vyjádřené rezonanční Larmorovou frekvencí) při daných hodnotách rezidenčního času koordinované molekuly vody  $\tau_M$  a rotačního korelačního času kontrastní látky  $\tau_R$ . Klinicky relevantní hodnoty magnetické indukce jsou uvedeny na horní ose

vané molekuly vody<sup>37–43</sup>. Nicméně i další studované ligandy, nesoucí jednu pyridin-*N*-oxidovou pendantní skupinu (DO3Apy<sup>NO</sup>, obr. 9), které tvoří exkluzivně SA izomer, také vykazovaly velmi rychlou výměnu koordinované vody<sup>44</sup>. Toto netypické chování lze přičíst na vrub flexibilitě koordinačního okolí způsobené přítomností šestičlenného chelátového cyklu – tím dojde ke zvětšení vzdálenosti  $N_4$  a  $O_4$  rovin na hodnoty typické spíše pro TSA izomer<sup>45</sup>. V některých případech studovaných komplexů byl naměřen rezidenční čas molekuly vody, který ležel v rozsahu optimálních (požadovaných) hodnot dle teorie. Zároveň byla pozorována vysoká kinetická inertnost komplexů nových makrocyclických ligandů, umožňující potenciální použití nových komplexů *in vitro/in vivo*<sup>46</sup>. Nové ligandy s lineárním skeletem bohužel tvoří komplexy podstatně méně stálé<sup>47</sup>. Byly navrženy bifunkční deriváty, které byly kovalentně navázány na makromolekulární nosiče, jako jsou polysacharidy (derivatizovaný inulin)<sup>48</sup>, polyamidoaminové dendrimery<sup>49–52</sup>, kalixareny<sup>53</sup> nebo cyklodextriny<sup>54</sup>. Bylo pozorováno, že v případě flexibilních nosičů (inulin, dendrimery) nedochází k tak významnému nárůstu relaxivity, jak by příslušelo nárůstu molárního objemu kontrastní látky, a to především díky lokálním pohybům makromolekulárního centra, které efektivně zkracují rotační čas samotného komplexu. Oproti tomu při použití rigidních nosičů – cyklodextrinů – byl pozorován velmi významný nárůst relaxivity, poskytující kontrastní látky s nejvyšší dosaženou hodnotou relaxivity rozpočítané na jednotku molární hmotnosti (tzv. hustotou relaxivity). Těto vlastnosti lze využít např. pro značení buněčných kultur a následně sledování osudu transplantovaných buněk v organismu. Proto byly připraveny bimodální kontrastní látky typu MR-OM, nesoucí kromě gadolinitého komplexu též fluoreskující molekulu<sup>54</sup>. Tato fluorescenční značka pak umožnila sledování vstupu kontrastních látek do buněk pomocí fluorescenční mikroskopie (viz níže).

Další studovanou alternativou v naší skupině, jak zpomalit rotaci kontrastní látky, je sorpce nízkomolekulární kontrastní látky na nanokrystalický oxid titaničitý. I v tomto případě byl pozorován značný nárůst relaxivity, který umožnil efektivní značení buněčných kultur<sup>55</sup>. Výhodou této metody je možná současná sorpce gadolinitého komplexu a fluorescenční značky<sup>56</sup>.

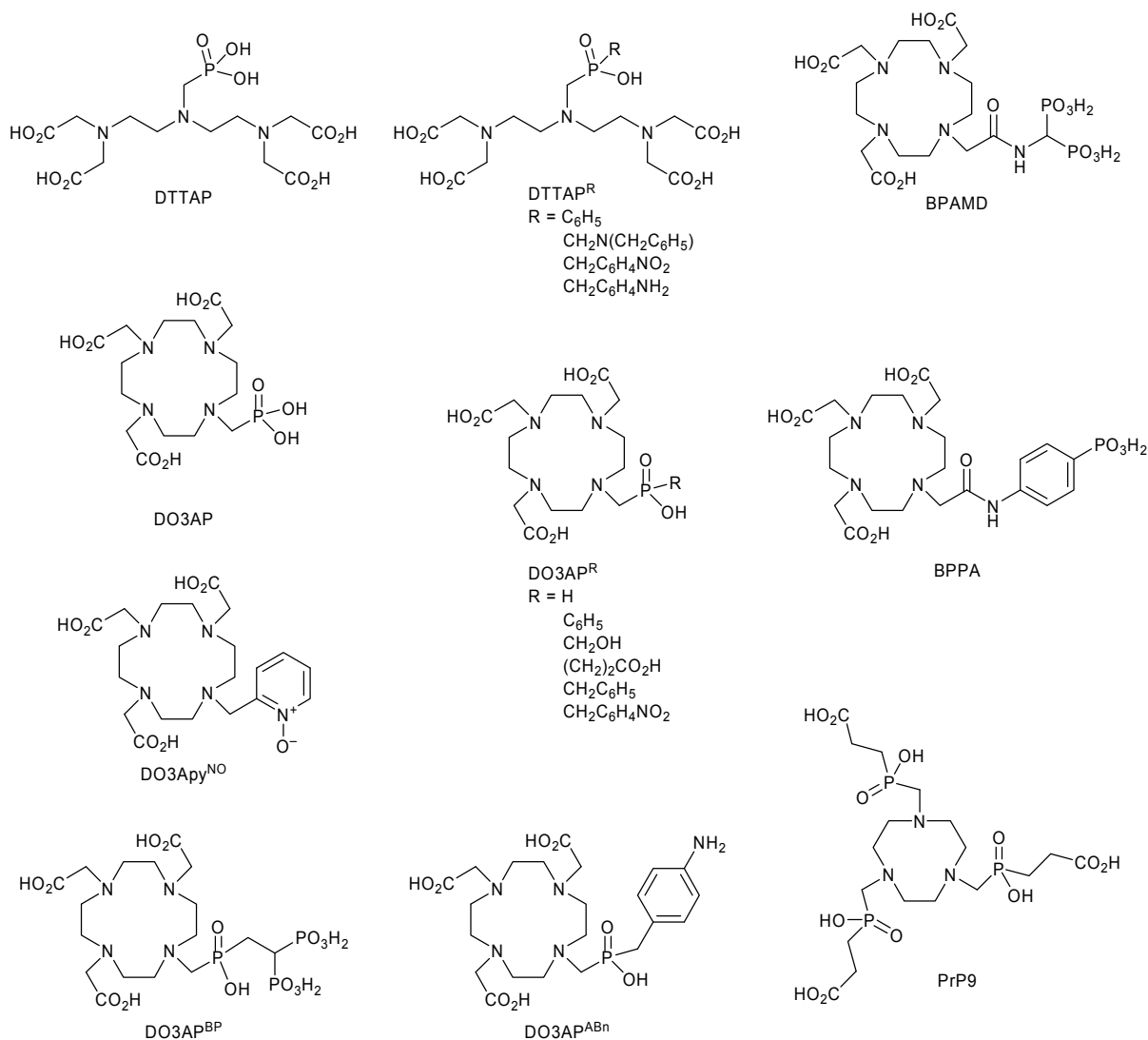
### 3. Komplexace radionuklidů v PET

V současné době je použití PET závislé na radionuklidech  $^{18}\text{F}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{N}$  a  $^{15}\text{O}$ , které mají krátký poločas rozpadu a jsou produkovány v cyklotronu, většinou mimo klinická pracoviště. Samotné zařízení, nutnost užití cyklotronu a nároky na dopravu pak řadí uvedené vyšetření k finančně mimořádně náročným. V současné době se pozornost vědců soustřeďuje na izotop  $^{68}\text{Ga}$ , který je přístupný z generátoru obsahujícího mateřský izotop  $^{68}\text{Ge}$  ( $\tau_{1/2} = 271$  d). S poločasem rozpadu 68 minut je izotop  $^{68}\text{Ga}$  vhodný pro většinu bio-cílených aplikací. Celá oblast využití  $^{68}\text{Ga}$  v PET byla shrnuta v nedávné době v přehledném článku<sup>57</sup>. Gallium je ve vodném roztoku stále jako kation  $\text{Ga}^{3+}$  a na rozdíl od výše zmíněných radioizotopů pro PET nemůže být na vybranou biomolekulu vázáno přímo (kovalentně). Pro jeho aplikace musí být vázáno vhodným ligandem, se kterým bude vytvářet velmi stabilní komplex již v kyselé oblasti. Zde je třeba si uvědomit, že při pH větším než 4 se tvoří nerozpustný hydroxid gallitý, který se při pH větším než 8 rozpouští za vzniku hydroxidokomplexů. Kromě obecných požadavků – snadná a levná syntéza, a dlouhodobá stálost – by měl ideální ligand pro  $^{68}\text{Ga}$  kombinovat následující vlastnosti: a) výsledný komplex by měl být velmi stabilní a to jak termodynamicky, tak i kineticky; b) rychlá komplexace v řádu minut a to při teplotě nižší než 40 °C, pH menším než 4 a při velmi nízkých koncentracích (nano až pikomolárních); c) komplexace musí být vůči  $\text{Ga}^{3+}$  selektivní, selektivita je důležitá vzhledem k možné transmetalaci s biogenními ionty, jako jsou  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  a  $\text{Zn}^{2+}$ ; d) schopnost konjugace s biologicky aktivními molekulami, které zajistí specifickou distribuci léčiva (tzv. bio-targeting).

Na obr. 10 jsou znázorněny některé příklady studovaných ligandů. Triazacykly (horní řádek) více splňují požadavky uvedené výše. Na rozdíl od lineárních ligandů (dolní řádek) tvoří komplexy s vyšší termodynamickou a také kinetickou stálostí. Na druhé straně, lineární ligandy komplexují ion  $\text{Ga}^{3+}$  mnohem rychleji, ale nemají rigidní dutinu (kavitu) požadované velikosti a tak nejsou selektivní<sup>58</sup>. Ligandy s thiolovou skupinou se ukázaly jako nejméně vhodné vzhledem k snadné oxidaci skupiny a také vzhledem k náročné syntéze<sup>59,60</sup>.

Největší význam pro komplexaci trojmocného gallia má DOTA<sup>61</sup> a ligandy typu NOTA<sup>62–64</sup>. Nejvíce využívané jsou deriváty DOTA především pro svoji komerční dostupnost a dostupnost vhodných konjugátů, které byly studovány jako CA pro MR a radioterapeutika<sup>65</sup>. Na druhé straně ligandy typu NOTA vykazují lepší stabilitu a selektivitu





Obr. 9. Ligandy studované ve skupině bioanorganické a koordinační chemie na katedře anorganické chemie PČF UK v Praze

vůči Ga<sup>3+</sup> vzhledem k velikosti kavity, která je pro tento ion ideální<sup>66</sup>.

Na základě uvedených znalostí a našich zkušeností byl na našem pracovišti navržen a syntetizován nový ligand PrP9 (obr. 9), který splňuje výše uvedené požadavky<sup>67</sup>. Výsledky ukázaly, že kinetika tvorby komplexu Ga-PrP9 je za běžných chemických i radiochemických podmínek mimořádně rychlá, rychlejší než analogická reakce s DOTA nebo NOTA. Uvedená rychlost komplexace vychází z předpokladu, že se pendantní rameno chová jako lineární ligand a zachytí gallitý ion pomocí karboxylové skupiny, což vede ke vzniku tzv. „out-of-cage“ komplexu. Ion se tak rychle dostane do blízkosti hlavního a energeticky

mnohem výhodnějšího chelatačního centra a přechod do kavity je tímto urychlen. Oproti jiným ligandům komplexace probíhá v širokém rozmezí pH, již od hodnoty pH 1, a ani při hodnotě pH 5 nebyl pozorován vznik sraženiny hydroxidu gallitého. Komplexace probíhá mimořádně rychle, při zahřátí na teplotu 60 °C a pH 3,5 je reakce ukončena dříve než za 1 min a při laboratorní teplotě je za 5 min zakomplexováno více než 90 % beznosičového <sup>68</sup>Ga<sup>3+</sup>. V případech NOTA a DOTA činí míra komplexace za identických podmínek 75, resp. 15 %. Na modelových látkách bylo pozorováno, že karboxylové skupiny ani po konjugaci s biomolekulami neztrácí schopnost zvyšovat rychlost komplexace.

#### 4. Duální kontrastní látky

Každá ze zobrazovacích metod (MR, PET a OM) má své výhody a nevýhody, které se týkají citlivosti, rozlišení a také ceny. Použití jednotlivých zobrazovacích metod je zatím přístrojově odděleno a k získání celkového obrazu je tedy nutno kombinovat výsledky, které byly získány za rozdílných podmínek. Také kontrastní látky jsou rozdílné a liší se biodistribucí a farmakokinetikou. Další výrazné zlepšení je možné dosáhnout sdružením jednotlivých přístrojů do jednoho zařízení, které využívá současně dvě nezávislé metody a provádí příslušná měření. Již existují komerční tomografy kombinující PET-CT a SPECT-CT, a jako prototypy již byly předvedeny sdružené přístroje PET-MR, které kombinují vysokou citlivost PET a výborné prostorové rozlišení MR. Velmi perspektivním se jeví i použití kontrastních látek PET-OM, např. pro chirurgickou praxi. Problematické tkáně – např. malé nádory – by mohly být snadno detegovány pomocí PET a následně při chirurgickém zákroku by mohly být zvýrazněny pomocí fluorescence. Kombinace fluorescenční a MR aktivní látky nabízí označení buněčných kultur – např. kmenových buněk nebo buněčných skupení (např. pankreatických ostrůvků). Vstup kontrastní látky do buněk lze potvrdit fluorescenční mikroskopií, a následně sledování osudu buněk po transplantaci do organismu je umožněno metodou MR<sup>68–75</sup>. Vedle běžných organických fluorescenčních látek je možné použít např. i směs izostrukturálních komplexů lanthanidů ( $\text{Eu}^{3+}/\text{Gd}^{3+}$ ) (cit.<sup>76,77</sup>).

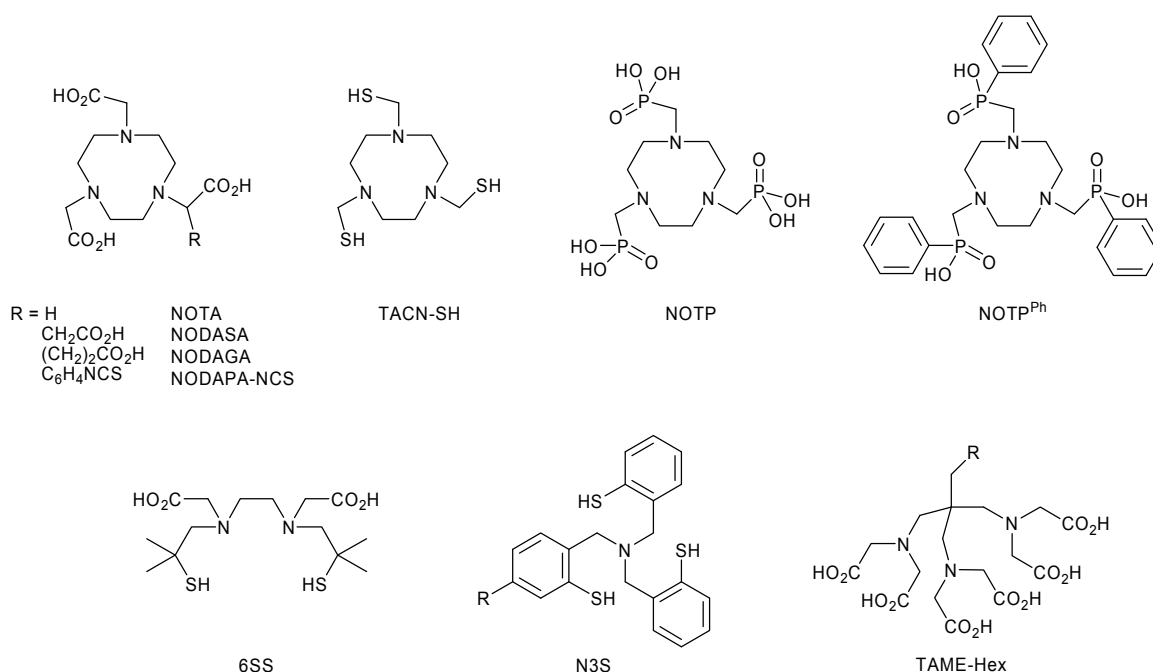
Komplex Gd–DTPA s fluorescenční značkou byl také použit pro značení kmenových buněk<sup>78,79</sup>. Vzhledem

k lepší stabilitě za podmínek *in vivo* jsou však pro tyto účely spíše využívány makrocyclické ligandy<sup>80</sup>. Z tohoto důvodu byly studovány deriváty Gd-DOTA komplexů s fluorescenční značkou<sup>81</sup>, tzv. „kvantové tečky“ (Q-dots) (cit.<sup>82</sup>) nebo nanočástice zlata<sup>83</sup> modifikované komplexem Gd-DOTA, nebo lipidické deriváty rhodaminu<sup>84</sup> a peptidy označené Gd-DOTA/fluoresceinem<sup>85–87</sup>. Vedle těchto  $T_1$ -CA byly připraveny, studovány a testovány bimodální kontrastní látky, které obsahovaly  $T_2$ -CA. Např. fluoresceinem označené nanočástice oxidu železa byly použity pro studie pankreatických ostrůvků *in vivo*<sup>88</sup>.

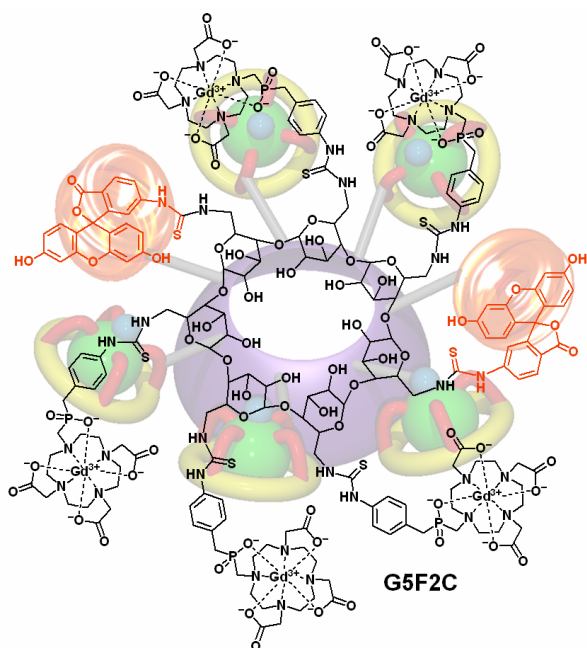
V naší skupině jsme vyšli z komplexu Gd-DO3AP<sup>ABn</sup> (obr. 9), který byl zakotven na *per*-6-amino-cyklodextrin, a z Gd-BPPA (obr. 9) zakotveného na nanočástice oxidu titaničitého. V prvním případě byl použit fluorescein, který byl statisticky navázán spolu komplexem na cyklodextrin (obr. 11, cit.<sup>54</sup>). V druhém byl použit rhodamin obsahující fosfonovou skupinu, prostřednictvím které byl na nanočástice ukotven<sup>56</sup>. Oba takto připravené materiály vykazují jen velmi nízkou toxicitu a jsou velmi ochotně přijímány buňkami.

#### 5. Cílení (targeting) léčiv

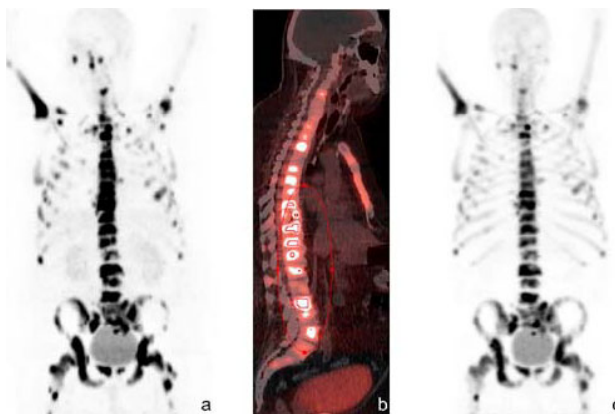
Oblast cílení (targetingu) léčiv nebo různých terapeutických i diagnostických radioizotopů, kontrastních látek a optických sond je v popředí výzkumu farmaceutických firem i akademických pracovišť. V naší skupině jsme se zaměřili na anorganickou targetizující skupinu, na bisfosfonáty. Bisfosfonáty patří mezi organofosforové sloučeniny



Obr. 10. Ligandy používané pro komplexaci radioaktivního gallia



Obr. 11. Schematický vzorec duální kontrastní látky MR-OM

Obr. 12. Srovnání PET obrazů získaných pomocí a)  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD a c) fluoridem  $^{18}\text{F}$  u pacienta s kostními metastázemi rakoviny prostaty; b) překryv  $^{68}\text{Ga}$ -BPAMD PET a CT obrazů. Převzato z cit.<sup>94</sup>

ny a jsou již více než půl století využívány k léčbě kostních chorob. Tato léčiva se pevně váží na hydroxyapatit [fosforečnan-hydroxid vápenatý,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ], který tvoří hlavní anorganickou složku kostní tkáně (50–70 % hmotnosti). Po navázání na povrch kosti pak bisfosfonát ovlivňuje funkci kostních buněk a zpomaluje tak odbourávání kostní tkáně. Proto také dochází k akumulaci bisfosfonátů především tam, kde je aktivita kostních buněk největší – v kostních chrupavkách, místech růstu kostí či oblastech patologických změn<sup>89</sup>. Bylo připraveno několik makrocyclických derivátů nesoucích v postranním řetězci

tuto skupinu (např. BPAMD a  $\text{DO3AP}^{\text{BP}}$ , obr. 9).<sup>90–93</sup> Ve spolupráci s Erasmus Medical Center v holandském Rotterdamu byl komplex jedné ze studovaných látek (BPAMD, obr. 9) s izotopem  $^{177}\text{Lu}$  testován metodou SPECT za podmínek *in vivo*. Výsledky ukázaly velice rychlé navázání látek na kostní tkáň s přednostní lokalizací v chrupavkách a místech růstu kostí<sup>91</sup>. V současné době jsou komplexy těchto látek s izotopem  $^{68}\text{Ga}$  testovány na Gutenbergově univerzitě v německém Mainzu pro diagnostiku kostních metastáz metodou PET<sup>94</sup>. Díky vysoké aktivitě buněk dochází k přednostní akumulaci radiodiagnostika v metastázách, což umožňuje jejich detailní zobrazení (obr. 12). Ve srovnání s dnes používanými diagnostickými metodami, založenými hlavně na aplikaci izotopu  $^{18}\text{F}$  ve formě fluoridových aniontů, je možno získat za použití nově vyvíjených látek snímky s výrazně vyšším kontrastem. To nejen zpřesňuje diagnostiku kostních metastáz, ale dovoluje i použití nižších dávek radioizotopů a tím omezení negativního vlivu záření na zdraví pacientů.

## 6. Závěr

Z uvedeného přehledu je zřejmý pokrok v uvedené problematice, který vede k látkám s lepšími vlastnostmi a s vyšší účinností. Aplikace v humánní medicíně je však vázána na celou řadu velice drahých preklinických a klinických testů podobně jako při hledání nových léčiv. Z tohoto důvodu je přechod od chemického a fyzikálního výzkumu k reálnému využití poměrně strastiplný a to i u látek, které vykazují mnohem lepší vlastnosti nežli látky dosud používané, a navíc rozhodují pochopitelně ekonomické faktory. Nicméně základní výzkum, který je orientován na nové přístroje a obecné trendy v medicíně, je nezbytný. V současné době již existuje v Evropě několik přístrojů, které v sobě obsahují MR a PET skener. Kombinují tak vysokou citlivost metody PET a výborné rozlišovací schopnosti MR. Jiný příklad je kombinace fluorescenční a PET kontrastní cílené látky. Taková látka pomocí PET zobrazí i velmi malé nádory a při jejich chirurgickém odstranění na ně upozorňuje svou výraznou fluorescencí. Uvedené postupy byly většinou prezentovány na zvířecích modelech, ale již byly zveřejněny i první pokusy v humánní medicíně.

Velký výzkumný potenciál je zaměřen na cílené (tzv. targetizující) CA a také na CA, které mění svoji účinnost v závislosti na fyzikálních nebo chemických změnách. Příklad těch cílených CA, zaměřených na kostní tkáň, byl ukázán výše. Velké úsilí je zaměřeno na cílené nádorové CA, které často obsahují oligopeptidy, např. octreotid. Velmi žádané jsou CA, které by reagovaly na apoptické buňky. To by umožnilo sledovat úspěšnost léčby, popř. na základě získaných výsledků lépe dávkovat chemoterapeutika. Ale i CA zacílená na zánětlivá ložiska by přispěla k úspěšné léčbě řady onemocnění. Žádané jsou CA, které reagují na změny fyzikálních veličin, jako je např. teplota, nebo změny chemické, např. pH, koncentrace iontů atp. Tato oblast je velmi perspektivní pro design nových ligan-

dů a jejich komplexů.

I když na konci tohoto výzkumu jsou nové diagnostické metody pro klinickou aplikaci, které dále zlepšují informovanost lékařů, na jejím začátku je základní multidisciplinární výzkum, a ten chemický se na tom významně podílí.

#### LITERATURA

1. Merbach A. E., Tóth É. (ed.): *The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging*. John Wiley & Sons, Chichester 2001.
2. Jun Y., Lee J., Cheon J., v knize: *Nanobiotechnology II* (Mirkin C. A., Niemeyer C. M., ed.), str. 321-346. Wiley-VCH, Weinheim 2007.
3. Krause W. (ed.): *Contrast Agents I. Magnetic Resonance Imaging*. Topics Curr. Chem. 221. Springer Verlag, Heidelberg 2002.
4. Aime S., Botta M., Terreno E., v knize: *Advances in Inorganic Chemistry, Volume 57* (van Eldik R., Bertini I., ed.), str. 173-237. Elsevier, San Diego 2005.
5. Lauffer R. B.: Chem. Rev. 87, 901 (1987).
6. Peters J. A., Huskens J., Raber D. J.: Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc. 28, 283 (1996).
7. Aime S., Botta M., Fasano M., Terreno E.: Chem. Soc. Rev. 27, 19 (1998).
8. Caravan P., Ellison J. J., McMurry T. J., Lauffer R. B.: Chem. Rev. 99, 2293 (1999).
9. Aime S., Botta M., Fasano M., Geninatti Crich S., Terreno E.: Coord. Chem. Rev. 185, 321 (1999).
10. Aime S., Geninatti Crich S., Gianolio E., Giovenzana G. B., Tei L., Terreno E.: Coord. Chem. Rev. 250, 1562 (2006).
11. Caravan P.: Chem. Soc. Rev. 35, 512 (2006).
12. Bottrill M., Kwok L., Long N. J.: Chem. Soc. Rev. 35, 557 (2006).
13. Chan K. W., Wong W.: Coord. Chem. Rev. 251, 2428 (2007).
14. Hermann P., Kotek J., Kubiček V., Lukeš I.: Dalton Trans. 2008, 3027.
15. Helm L.: Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc. 49, 45 (2006).
16. Lukeš I., Kotek J., Vojtišek P., Hermann P.: Coord. Chem. Rev. 216-217, 287 (2001).
17. Delgado R., Félix V., Lima L. M., Price D. W.: Dalton Trans. 2007, 2734.
18. Bianchi A., Calabi L., Corana F., Fontana S., Losi P., Maiocchi A., Paleari L., Valtancoli B.: Coord. Chem. Rev. 204, 309 (2000).
19. Brücher E.: Topics Curr. Chem. 221, 103 (2002).
20. Anderegg G., Arnaud-Neu F., Delgado R., Felcman J., Popov K.: Pure Appl. Chem. 77, 1445 (2005).
21. Aime S., Botta M., Fasano M., Terreno E.: Acc. Chem. Res. 32, 941 (1999).
22. Botta M.: Eur. J. Inorg. Chem. 2000, 399.
23. Yazyev O. V., Helm L.: Eur. J. Inorg. Chem. 2008, 201.
24. Lowe M. P.: Aust. J. Chem. 55, 551 (2002).
25. Aime S., Cabella C., Colombatto S., Geninatti Crich S., Gianolio E., Maggioni F.: J. Magn. Reson. Imaging 16, 394 (2002).
26. Woods M., Kovács Z., Sherry A. D.: J. Supramol. Chem. 2, 1 (2002).
27. Lowe M. P.: Curr. Pharm. Biotechnol. 5, 519 (2004).
28. Kobayashi H., Brechbiel M. W.: Curr. Pharm. Biotechnol. 5, 539 (2004).
29. Venditto V. J., Regino C. A., Brechbiel M. W.: Mol. Pharmaceutics 2, 302 (2005).
30. Langereis S., Dirksen A., Hackeng T. M., van Genderen M. H., Meijer E. W.: New J. Chem. 31, 1152 (2007).
31. Frullano L., Meade T. J.: J. Biol. Inorg. Chem. 12, 939 (2007).
32. Terreno E., Botta M., Fedeli F., Mondino B., Milone L., Aime S.: Inorg. Chem. 42, 4891 (2003).
33. Terreno E., Botta M., Boniforte B., Bracco C., Milone L., Mondino B., Uggeri F., Aime S.: Chem. Eur. J. 11, 5531 (2005).
34. Aime S., Calabi L., Cavallotti C., Gianolio E., Giovenzana G. B., Losi P., Maiocchi A., Palmisano G., Sisti M.: Inorg. Chem. 43, 7588 (2004).
35. Raymond K. N., Pierre V. C.: Bioconjugate Chem. 16, 3 (2005).
36. Seitz M., Pluth M. D., Raymond K. N.: Inorg. Chem. 46, 351 (2007).
37. Kotek J., Lebdušková P., Hermann P., Vander Elst L., Muller R. N., Geraldès C. F. G. C., Maschmeyer T., Lukeš I., Peters J. A.: Chem. Eur. J. 9, 5899 (2003).
38. Rudovský J., Kotek J., Hermann P., Lukeš I., Mainero V., Aime S.: Org. Biomol. Chem. 3, 112 (2005).
39. Rudovský J., Cígler P., Kotek J., Hermann P., Vojtišek P., Lukeš I., Peters J. A., Vander Elst L., Muller R. N.: Chem. Eur. J. 11, 2373 (2005).
40. Rudovský J., Botta M., Hermann P., Koridze A., Aime S.: Dalton Trans. 2006, 2323.
41. Lebdušková P., Hermann P., Helm L., Tóth É., Kotek J., Binnemans K., Rudovský J., Lukeš I., Merbach A. E.: Dalton Trans. 2007, 493.
42. Vojtišek P., Cígler P., Kotek J., Rudovský J., Hermann P., Lukeš I.: Inorg. Chem. 44, 5591 (2005).
43. Kotek J., Rudovský J., Hermann P., Lukeš I.: Inorg. Chem. 45, 3097 (2006).
44. Polášek M., Šedinová M., Kotek J., Vander Elst L., Muller R. N., Hermann P., Lukeš I.: Inorg. Chem. 48, 455 (2009).
45. Polášek M., Kotek J., Hermann P., Císařová I., Binnemans K., Lukeš I.: Inorg. Chem. 48, 466 (2009).
46. Försterová M., Svobodová I., Lubal P., Táborský P., Kotek J., Hermann P., Lukeš I.: Dalton Trans. 2007, 535.
47. Kotek J., Kálmán F. K., Hermann P., Brücher E., Binnemans K., Lukeš I.: Eur. J. Inorg. Chem. 2006, 1976.
48. Lebdušková P., Kotek J., Hermann P., Vander Elst L., Muller R. N., Lukeš I., Peters J. A.: Bioconjugate Chem. 15, 881 (2004).
49. Rudovský J., Hermann P., Botta M., Aime S., Lukeš

- I.: Chem. Commun. 2005, 2390.
50. Lebdušková P., Sour A., Helm L., Tóth É., Kotek J., Lukeš I., Merbach A. E.: Dalton Trans. 2006, 3399.
  51. Rudovský J., Botta M., Hermann P., Hardcastle K. I., Lukeš I., Aime S.: Bioconjugate Chem. 17, 975 (2006).
  52. Polášek M., Hermann P., Peters J. A., Gerald C. F. G. C., Lukeš I.: Bioconjugate Chem. 20, 2142 (2009).
  53. Schühle D. T., Polášek M., Lukeš I., Chauvin T., Tóth É., Schatz J., Hanefeld U., Stuart M. C., Peters J. A.: Dalton Trans. 2010, 185.
  54. Kotková Z., Kotek J., Jiráček D., Jendelová P., Herynek V., Berková Z., Hermann P., Lukeš I.: Chem. Eur. J. 16, 10094 (2010).
  55. Řehoř I., Kubiček V., Kotek J., Hermann P., Lukeš I., Száková J., Vander Elst L., Muller R. N., Peters J. A.: J. Mater. Chem. 19, 1494 (2009).
  56. Řehoř I., Kubiček V., Kotek J., Hermann P., Száková J., Lukeš I.: Eur. J. Inorg. Chem., zasláno.
  57. Fani M., André J. P., Mäcke H. R.: Contrast Media Mol. Imaging 3, 67 (2008).
  58. Hancock R. D., Martell A. E.: Supramol. Chem. 6, 401 (1996).
  59. Sun Y., Anderson C. J., Pajean T. S., Reichert D. E., Hancock R. D., Motekaitis R. J., Martell A. E., Welch M. J.: J. Med. Chem. 39, 458 (1996).
  60. Notni J., Pohle K., Peters J. A., Görls H., Platas-Iglesias C.: Inorg. Chem. 48, 3257 (2009).
  61. Breeman W. A., de Jong M., de Blois E., Bernard B. F., Konijnenberg M., Krenning E. P.: Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging 32, 478 (2005).
  62. André J. P., Mäcke H. R., Zehnder M., Macko L., Akyel K. G.: Chem. Commun. 1998, 1301.
  63. Eisenwiener K., Prata M. I., Buschmann I., Zhang H., Santos A. C., Wenger S., Reubi J. C., Mäcke H. R.: Bioconjugate Chem. 13, 530 (2002).
  64. Riss P. J., Kroll C., Nagel V., Rösch F.: Bioorg. Med. Chem. 18, 5364 (2008).
  65. Broan C. J., Cole E., Jankowski K. J., Parker D., Pulkody K., Boyce B. A., Beeley N. R., Millar K., Millican A. T.: Synthesis 1992, 63.
  66. Heppeler A., Froidevaux S., Mäcke H. R., Jermann E., Béhé M., Powell P., Hennig M.: Chem. Eur. J. 5, 1974 (1999).
  67. Notni J., Hermann P., Havlíčková J., Kotek J., Kubiček V., Plutnar J., Loktionova N., Riss P. J., Rösch F., Lukeš I.: Chem. Eur. J. 16, 7174 (2010).
  68. Aime S., Barge A., Cabella C., Geninatti Crich S., Gianolio E.: Curr. Pharm. Biotechnol. 5, 509 (2004).
  69. Aime S., Geninatti Crich S., Gianolio E., Giovenzana G. B., Tei L., Terreno E.: Coord. Chem. Rev. 250, 1562 (2006).
  70. Long C. M., Bulte J. W. M.: Expert Opin. Biol. Ther. 9, 293 (2009).
  71. Liu W., Frank J. A.: Eur. J. Radiol. 70, 258 (2009).
  72. Frullano L., Meade T. J.: J. Biol. Inorg. Chem. 12, 939 (2007).
  73. Corr S. A., Rakovich Y. P., Gun'ko Y. K.: Nanoscale Res. Lett. 3, 87 (2008).
  74. Kim J., Piao Y., Hyeon T.: Chem. Soc. Rev. 38, 372 (2009).
  75. Lee S., Chen X.: Mol. Imaging 8, 87 (2009).
  76. Allen M. J., Meade T. J.: J. Biol. Inorg. Chem. 8, 746 (2003).
  77. Geninatti Crich S., Biancone L., Cantaluppi V., Duò D., Esposito G., Russo S., Camussi G., Aime S.: Magn. Reson. Med. 51, 938 (2004).
  78. Brekke C., Morgan S. C., Lowe A. S., Meade T. J., Price J., Williams S. C., Modo M.: NMR Biomed. 20, 77 (2007).
  79. Jun S., Xiao-Mei Z., Xiao-Hui D., Li-Na C., Guo-Bing H., Xiao-Bing B., Yu L.: Acad. Radiol. 16, 1142 (2009).
  80. Cabella C., Geninatti Crich S., Corpillo D., Barge A., Ghirelli C., Bruno E., Lorusso V., Uggeri F., Aime S.: Contrast Media Mol. Imaging 1, 23 (2006).
  81. Mishra A., Pfeuffer J., Mishra R., Engelmann J., Mishra A. K., Ugurbil K., Logothetis N. K.: Bioconjugate Chem. 17, 773 (2006).
  82. Jin T., Yoshioka Y., Fujii F., Komai Y., Seki J., Seiyama A.: Chem. Commun. 2008, 5764.
  83. Song Y., Xu X., MacRenaris K. W., Zhang X., Mirkin C. A., Meade T. J.: Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 48, 9143 (2009).
  84. Kamaly N., Kalber T., Kenny G., Bell J., Jorgensen M., Miller A.: Org. Biomol. Chem. 8, 201 (2010).
  85. Su W., Mishra R., Pfeuffer J., Wiesmu K., Ugurbil K., Engelmann J.: Contrast Media Mol. Imaging 2, 42 (2007).
  86. Sturzu A., Regenbogen M., Klose U., Echner H., Gharabaghi A., Heckl S.: Eur. J. Pharm. Sci. 33, 207 (2008).
  87. Sturzu A., Klose U., Echner H., Beck A., Gharabaghi A., Kalbacher H., Heckl S.: Amino Acids 37, 249 (2009).
  88. Evgenov N. V., Medarova Z., Dai G., Bonner-Weir S., Moore A.: Nature Med. 12, 144 (2006).
  89. Kubiček V., Lukeš I.: Future Med. Chem. 2, 521 (2010).
  90. Kubiček V., Rudovský J., Kotek J., Hermann P., Vander Elst L., Muller R. N., Kolar Z. I., Wolterbeek H. T., Peters J. A., Lukeš I.: J. Am. Chem. Soc. 127, 16477 (2005).
  91. Vitha T., Kubiček V., Hermann P., Vander Elst L., Muller R. N., Kolar Z. I., Wolterbeek H. T., Breeman W. A., Lukeš I., Peters J. A.: J. Med. Chem. 51, 677 (2008).
  92. Vitha T., Kubiček V., Hermann P., Kolar Z. I., Wolterbeek H. T., Peters J. A., Lukeš I.: Langmuir 24, 1952 (2008).
  93. Vitha T., Kubiček V., Kotek J., Hermann P., Vander Elst L., Muller R. N., Lukeš I., Peters J. A.: Dalton Trans. 2009, 3204.
  94. Fellner M., Baum R. P., Kubiček V., Hermann P., Lukeš I., Prasad V., Rösch F.: Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging 37, 834 (2010).

**J. Kotek and I. Lukeš** (*Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague*): **Chelates for Biomedical Use**

Magnetic resonance imaging (MRI) and positron emission tomography (PET) have gained a great importance in the last thirty years in medicinal diagnostics as imaging techniques with a superior spatial resolution and contrast. MRI has assumed a critical role in medicinal diagnosis and applications of contrast agents (CAs),

mostly based on Gd(III) complexes. For this purpose, specific CAs have been developed, changing relaxivity after cleavage of some bonds sensitive to the presence of specific ions or metabolites. For PET applications, a new isotope  $^{68}\text{Ga(III)}$  has been proposed. In view of utilization of toxic ions, the crucial condition for their applications in vivo is their complexation in stable species. In this review, the ligand types and structures of their complexes as well as their physicochemical parameters are discussed.

## ENZYMY HATCHOVA-SLACKOVA CYKLU V C<sub>3</sub> ROSTLINÁCH

HELENA RYŠLAVÁ  
a VERONIKA DOUBNEROVÁ

Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra biochemie, Hlavova 2030, 128 40 Praha 2  
rysl@natur.cuni.cz

Došlo 1.7.10, přijato 9.11.10.

Klíčová slova: fosfoenolpyruvátkarboxylasa; NADP-malátdehydrogenasa (oxaloacetát dekarboxylační); pyruvát, fosfát dikinasa; regulace; stres rostlin

### Obsah

1. Úvod
2. C<sub>4</sub> cesta fotosyntetické fixace CO<sub>2</sub>
3. Fosfoenolpyruvátkarboxylasa PEPC
4. NADP-malátdehydrogenasa (oxaloacetát dekarboxylační) NADP-ME
5. Pyruvát, fosfát dikinasa PPK
6. Kooperace nefotosyntetických isoform PEPC, NADP-ME a PPK
7. Závěr

### 1. Úvod

Vznik oxigenní fotosyntézy způsobil změnu ve složení atmosféry – snížení zastoupení CO<sub>2</sub> a zvýšení O<sub>2</sub>. Tato skutečnost ovlivnila funkci hlavního fotosyntetického enzymu ribulosobisfosfátkarboxylasy/oxygenasy (Rubisco, EC 4.1.1.39), který má vedle karboxylační aktivity také aktivitu oxygenasovou, vedoucí k fotorespiraci a snížení fotosyntetické účinnosti. Fotosyntetizující organismy byly tedy nuceny vyvinout mechanismus, který by zvýšil koncentraci CO<sub>2</sub> v blízkosti aktivního centra Rubisco (CCM – CO<sub>2</sub> concentrating mechanism)<sup>1</sup>. V sinicích, řasách a vodních vyšších rostlinách hrají důležitou roli přenašeče HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, CO<sub>2</sub> a enzym karbonátanhydrasa (EC 4.2.1.1)<sup>2-4</sup>. Další možností je tzv. C<sub>4</sub> a CAM (Crassulacean acid metabolism) cesta fixace CO<sub>2</sub>, která zvyšuje koncentraci CO<sub>2</sub> v blízkosti Rubisco pomocí přídatných metabolických drah katalyzovaných fosfoenolpyruvátkarboxylasou (PEPC, EC 4.1.1.31); NADP-dependentní malátdehydrogenasou (NADP-MDH, EC 1.1.1.82); NADP-dependentní malátdehydrogenasou (oxaloacetát dekarboxylační) (NADP-ME, EC 1.1.1.40) a pyruvát, fosfát dikinasou (PPDK, EC 2.7.9.1)<sup>5</sup>. Cyklus byl objeven M. D. Hatchem a C. R.

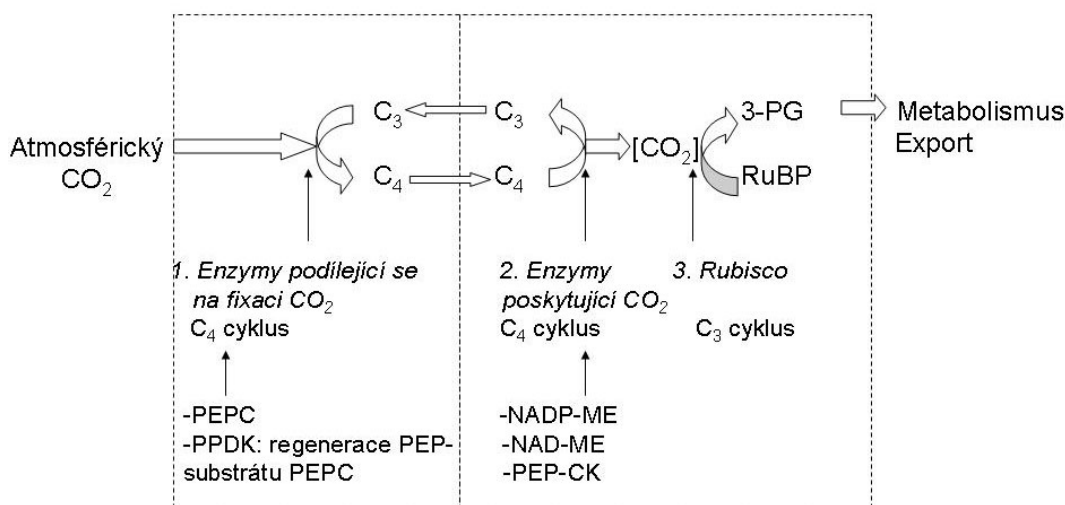
Slackem<sup>6</sup> v roce 1966, funkce fotosyntetických isoform tak byla objasněna, avšak zájem o nefotosyntetické isoformy jednotlivých enzymů přítomné i v „obyčejných“ C<sub>3</sub> rostlinách trvá do současnosti. Hlavním důvodem může být souvislost PEPC, NADP-ME a PPK s obrannými odpověďmi rostlin vůči stresu a rozdíly ve způsobu jejich regulace.

### 2. C<sub>4</sub> cesta fotosyntetické fixace CO<sub>2</sub>

Některé rostliny se před 85–65 miliony lety přizpůsobily suchému, horkému prostředí s vysokými světelnými intenzitami pomocí přídatných metabolických drah známých jako Hatchův a Slackův cyklus<sup>7</sup>. Ten přináší oproti přímé fotosyntetické fixaci CO<sub>2</sub> Calvinovým cyklem, ke které dochází u přibližně 95 % rostlin (tzv. C<sub>3</sub> rostlin), několik výhod, ačkoliv na úkor dalších energetických nákladů v podobě ATP. Výhodou PEPC je schopnost využívat nižší koncentrace CO<sub>2</sub> než Rubisco, navíc v podobě HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>. C<sub>4</sub> rostlina má nižší ztráty vody transpirací a nižší ztráty fotosyntézy fotorespirací oproti C<sub>3</sub> (cit.<sup>5</sup>). V C<sub>4</sub> rostlinách (např. v kukuřici, cukrové třtině, čiroku, prosu) probíhá primární fixace CO<sub>2</sub> za katalýzy PEPC v mesofylových buňkách; čtyřuhlíkatý metabolit L-malát nebo L-aspartát je transportován do buněk pochev svazků cévních, kde probíhá dekarboxylace pomocí NADP-ME nebo fosfoenolpyruvátkarboxykinasy (PEPCK, EC 4.1.1.49) nebo NAD-dependentní malátdehydrogenasy dekarboxylační (NAD-ME, EC 1.1.1.39). Uvolněný CO<sub>2</sub> je v těchto buňkách znovu fixován pomocí Rubisco již obvyklým způsobem. Tříuhlíkatý metabolit v podobě pyruvátu (nebo alaninu) se vrací do mesofylových buněk a za katalýzy PPK je regenerován PEP, primární akceptor CO<sub>2</sub> (obr. 1, cit.<sup>5</sup>).

Důležitou podmínkou pro fungování cyklu je prostorové či časové oddělení karboxylační a dekarboxylační reakce. Prostorové oddělení mezi buňky mesofylové a buňky pochev cévních svazků je u C<sub>4</sub> rostlin umožněno jejich zvláštní tzv. věnčitou (neboli Kranz) anatomii listu. V CAM rostlinách, mezi které patří především sukulenty, ale také tropické rostliny, např. některé orchideje, je primární a sekundární fixace CO<sub>2</sub> oddělena časově; CO<sub>2</sub> je vázán PEPC v průběhu noci, kdy není teplota okolního prostředí tak vysoká a mohou být otevřeny průduchy, aniž by docházelo k velkým ztrátám vody. Produkt fixace CO<sub>2</sub> L-malát je poté skladován ve vakuole a ve dne je pak dekarboxylován za katalýzy NADP-ME a CO<sub>2</sub> znovu fixován Rubisco<sup>5,62,63</sup>.

V nedávné době bylo zjištěno, že C<sub>4</sub> cesta fixace CO<sub>2</sub> může probíhat i v jedné buňce, která je rozdělena na dvě části umožňující oddělení primární fixace CO<sub>2</sub> a dekarboxylace spolu s Calvinovým cyklem. Takovým příkladem je



Obr. 1. C<sub>4</sub> cesta fixace CO<sub>2</sub> (převzato z cit.<sup>8</sup> a upraveno); PEPC, fosfoenolpyruvátkarboxylasa; C<sub>4</sub>, čtyřuhlíkatý meziprodukt L-malát nebo L-aspartát; NADP-ME, NADP-malátdehydrogenasa (oxaloacetát dekarboxylační); PEPCK, fosfoenolpyruvátkarboxykinasa; NAD-ME, NAD-dependentní malátdehydrogenasa dekarboxylační; Rubisco, ribulosabisfosfátkarboxylasa/oxygenasa; RuBP, ribulosa-1,5-bisfosfát; 3-PG, 3-fosfoglycerát; C<sub>3</sub>, tříuhlíkatý meziprodukt pyruvát nebo alanin; PPK, pyruvát, fosfát dikinasa (PPDK)

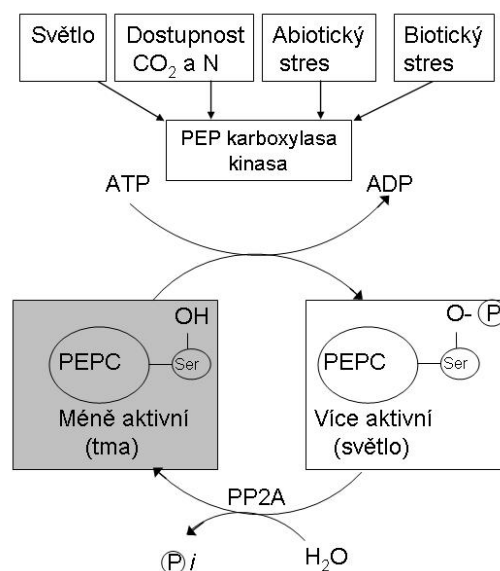
rostlina *Suaeda aralocaspica*, která má protáhlé buňky; v části přiléhající k epidermis probíhá primární fixace CO<sub>2</sub> za vzniku čtyřuhlíkaté sloučeniny a v části buňky blízké k cévním svazkům, která je bohatá na chloroplasty, probíhá dekarboxylace a Calvinův cyklus. V rostlině *Bienertia cycloptera* probíhají obdobné biochemické pochody, avšak v kulovitých buňkách s velkými mezibuněčnými prostory probíhá primární fixace v periferních oblastech, dekarboxylace pak ve středu<sup>8</sup>.

### 3. Fosfoenolpyruvátkarboxylasa

Fosfoenolpyruvátkarboxylasa (PEPC) je cytosolový enzym, který se vyskytuje ve všech vyšších rostlinách, zelených řasách a mikroorganismech, avšak nebyl nalezen u živočichů a hub. Katalyzuje ireverzibilní β-karboxylaci fosfoenolpyruvátu v přítomnosti HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> a dvojmocného kationtu (Mg<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>) za vzniku oxaloacetátu a P<sub>i</sub>. Tato reakce je silně exergonická. PEPC je citlivě regulována na mnoha úrovních, mezi důležité inhibitory patří L-malát a aktivátory D-glukosa-6-fosfát<sup>9-11</sup>. Další způsob regulace představuje fosforylace serinového zbytku v blízkosti N-konce. Tato fosforylace je katalyzována specifickou PEPC kinasou (obr. 2, cit.<sup>12</sup>). Je to nejmenší známá proteinkinasa, která obsahuje jen katalytickou doménu bez regulačních oblastí. Její aktivita v buňce je regulována syntézou *de novo*. V C<sub>4</sub> rostlinách se na této regulaci podílí především světlo, v C<sub>3</sub> rostlinách je situace složitější, záleží také na dostupnosti CO<sub>2</sub>, dusíku a na dalších vlivech (obr. 2, cit.<sup>12-14</sup>).

Fosforylace PEPC znamená změnu kinetických parametrů enzymu; fosforylovaný enzym má vyšší maximální

rychlost reakce, je méně citlivý vůči inhibici L-malátem a více citlivý vůči aktivaci D-glukosa-6-fosfátem<sup>12</sup>. Tyto změny však neplatí obecně, např. fosforylovaná i nefosforylovaná forma PEPC z listů tabáku se neliší v hodnotě I<sub>50</sub> pro L-malát, pro PEPC ze semen kukuřice byla zjištěna po defosforylaci změna závislosti rychlosti reakce na koncen-



Obr. 2. Regulace aktivity PEPC fosforylací pomocí specifické PEPC kinasy (převzato z cit.<sup>12</sup> a upraveno); fosforylace PEPC specifickou PEPC kinasou znamená změnu kinetických parametrů enzymu; fosforylovaný enzym má vyšší maximální rychlost reakce. Defosforylaci PEPC katalyzuje fosfátasa 2A (PP2A)



traci PEP z hyperbolické na sigmoidální<sup>15,16</sup>.

Zatímco fotosyntetická PEPC má klíčovou úlohu v primární fixaci CO<sub>2</sub>, pro nefotosyntetickou PEPC jsou předpokládány následující funkce: *i*) doplňování intermediátů citrátového cyklu, *ii*) asimilace dusíku a biosyntéza aminokyselin, *iii*) malátové kvašení, *iv*) spolu s NAD-MDH udržování stálého pH v buňce, *v*) udržování elektro-neutrality, *vi*) spolu s NAD-MDH a NADP-ME produkce redukčních ekvivalentů NADPH, *vii*) opětovná fixace respirovaného CO<sub>2</sub> (cit.<sup>10,17</sup>).

PEPC je v rostlinách přítomna ve formě malé genové rodiny<sup>18</sup>. V C<sub>4</sub> rostlinách je ve fotosyntetických částech vysoká aktivita fotosyntetické isoformy PEPC, ve všech rostlinách se vyskytují isoformy, které plní anaplerotické funkce. V C<sub>3</sub> rostlině huseničku rolním (*Arabidopsis thaliana* L.) byly nalezeny tři isoformy homologické s dalšími rostlinnými PEPC a jedna, která vykazovala vyšší podobnost s bakteriální PEPC<sup>18</sup>. Bakteriální typ PEPC byl objeven také v rýži (*Oryza sativa* L.)<sup>18</sup>, v semenech skočce obecného (*Ricinus communis* L.)<sup>19</sup> a v semenech ječmene (*Hordeum vulgare* L.)<sup>20</sup>.

Některé rostliny mohou měnit typ fotosyntézy v závislosti na ontogenetickém vývoji či okolních podmínkách. Příkladem takové rostliny je kosmatec křišťálový (*Mesembryanthemum crystallinum*), kde dochází vlivem zvýšené koncentrace solí ke změně metabolismu z C<sub>3</sub> na CAM. Tato změna je provázána zvýšením aktivity PEPC a její syntézou *de novo*<sup>21,22</sup>.

Porušení vodní rovnováhy rostlin způsobené suchem, chladem či zasolenou půdou vede rovněž ke zvýšení aktivity PEPC<sup>23–25</sup>. Zvýšená aktivita PEPC byla zjištěna i v souvislosti s nedostatkem některých živin či esenciálních prvků<sup>26</sup>, s nedostatkem fosfátu<sup>27–29</sup> a s nedostatkem Fe<sup>30,31</sup>. Za hypoxických podmínek byla zvýšena aktivita PEPC v rostlinách rýže<sup>32</sup>; ozon způsobil zvýšení aktivity PEPC v jehlicích borovice, avšak za současného působení sucha, kdy jsou uzavřeny průduchy a ozon nepronikne dovnitř, ke zvýšení aktivity nedošlo<sup>33</sup>.

Biotický stres způsobený virovou infekcí působí řadu metabolických změn: snížení fotosyntézy, snížení aktivity Rubisco, zvýšení aktivity antioxidantních enzymů a také zvýšení aktivity PEPC, a to především pomocí zvýšení její fosforylace<sup>15,34,35</sup>.

Zvýšení aktivity PEPC v rostlinách za stresových podmínek pravděpodobně souvisí se zvýšenou produkcí L-malátu, který vzniká po redukcí oxaloacetátu. Malát vedle dalších látek působí jako osmolytikum, což je důležité při všech typech stresu, které porušují vodní rovnováhu rostliny<sup>23–25</sup>. Malát může být ve zvýšené míře sekretován kořeny, je-li v rostlině nedostatek fosfátu nebo dalších živin<sup>27–29</sup>. Stejný mechanismus používá rostlina i v přítomnosti toxických kovů v půdě<sup>36</sup>. PEPC spojuje metabolismem sacharidů s metabolismem aminokyselin a proteinů, tato skutečnost může být pro rostlinu za stresu, kdy je nárok na syntézu proteinů vyšší, důležitá.

Přesný mechanismus zvýšení aktivity PEPC v rostlině jako reakce na stres není znám, ale důležitou roli hraje zvýšení fosforylace molekuly PEPC<sup>15,33</sup>.

#### 4. NADP-dependentní malátdehydrogenasa (oxaloacetát dekarboxylační)

NADP-dependentní malátdehydrogenasa (oxaloacetát dekarboxylační) (NADP-ME, z angl. malic enzyme) v přítomnosti koenzymu NADP<sup>+</sup> a dvojmocného kationtu (nejčastěji Mg<sup>2+</sup> nebo Mn<sup>2+</sup>) katalyzuje oxidační dekarboxylaci L-malátu za vzniku pyruvátu, CO<sub>2</sub> a NADPH<sup>37,38</sup>. NADP-ME může také katalyzovat dvě další reakce. Může působit jako oxaloacetátdekarboxylasa nebo redukovat  $\alpha$ -oxokarboxylové kyseliny (v přítomnosti koenzymu NADPH). NADP-ME katalyzuje také reverzibilní reakci, v opačném směru se tvoří L-malát a NADP<sup>+</sup>, avšak mnohem menší rychlostí<sup>39</sup>. Výskyt NADP-ME je velmi široký; tento enzym se nachází v prokaryotických i eukaryotických mikroorganismech, ve všech typech rostlin (C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> i CAM) a v živočišných tkáních včetně člověka. Struktura rostlinných i živočišných NADP-ME je převážně tetramerní, s relativní molekulovou hmotností jedné podjednotky 62 000–67 000 (cit.<sup>38,40</sup>).

Regulace fotosyntetických isoform NADP-ME se uskutečňuje inhibicí nadbytkem substrátu (L-malátu), ke které naopak u nefotosyntetických isoform z C<sub>3</sub> rostlin většinou nedochází<sup>38</sup>. Další regulace se uskutečňuje prostřednictvím aktivátorů a inhibitorů, ke kterým patří sukcinát,  $\alpha$ -oxoglutarát, oxaloacetát a fruktosa-1,6-bisfosfát<sup>37</sup>. NADP-ME je také regulována pH<sup>37,38</sup>.

Regulace nefotosyntetické isoformy NADP-ME je studována méně. V klíčící C<sub>3</sub> rostlině *Ricinus communis* byla NADP-ME aktivována sukcinátem, koenzymem A, acetylkoenzymem A a palmitoylkoenzymem A (cit.<sup>41</sup>). Aktivace těmito metabolity může souviset se syntézou vyšších mastných kyselin. V rostlině tabáku *Nicotiana tabacum* L. byly jako inhibitory NADP-ME zjištěny energeticky bohaté látky GTP, ATP, ADP. Intermediáty citrátového cyklu, látky spojené s lipogenezí a aminokyseliny neměly na aktivitu NADP-ME vliv, metabolity glykolýzy pouze mírný. Funkce NADP-ME v listech tabáku má pravděpodobně souvislost s energetickou bilancí rostliny<sup>42</sup>.

Aktivita NADP-ME v rostlinách tabáku je rovněž ovlivňována kofaktory (dvojmocnými kationty kovů). Vhodnými kofaktory NADP-ME z listů tabáku byly Mg<sup>2+</sup> (100 % aktivity), Mn<sup>2+</sup> (140 % aktivity), Co<sup>2+</sup> (59 %), Ni<sup>2+</sup> (54 %) a Zn<sup>2+</sup> ionty (20 % aktivity oproti Mg<sup>2+</sup>)<sup>43</sup>. V závislosti na přítomném kofaktoru se měnila afinita NADP-ME vůči L-malátu, zatímco afinita NADP-ME vůči NADP<sup>+</sup> nebyla přítomností různých kofaktorů ovlivněna<sup>43</sup>.

Pro nefotosyntetickou isoformu NADP-ME, přítomnou ve všech rostlinách, jsou předpokládány tyto funkce: *i*) poskytování NADPH pro biosyntetické procesy (např. biosyntézu tuků, ligninu, fytoalexinů), *ii*) poskytování NADPH jako koenzymu některých antioxidantních enzymů, *iii*) spolu s PEPC podíl na udržování intracelulárního pH, *iv*) dehydrogenace pyruvátu na acetyl-Co A a jeho další využití<sup>37</sup>.

Rostlinná NADP-ME je enzym kódovaný malými genovými rodinami<sup>7,44</sup>. V modelových C<sub>3</sub> rostlinách se

známým genomem *Arabidopsis thaliana* L.<sup>44</sup> a *Oryza sativa* L.<sup>7</sup> byly nalezeny geny pro tři cytosolové a jednu plastidovou isoformu NADP-ME. V tabáku i pšenici byl nalezen jeden gen pro cytosolovou a jeden gen pro plastidovou isoformu<sup>39,45</sup>. Expresse jednotlivých genů se liší v různých orgánech, vývojových stádiích i v odpovědi na stres, stejně jako regulace jednotlivých isoform<sup>7, 9, 44–46</sup>.

Také aktivita NADP-ME je studována v souvislosti se stresem. Zvýšení aktivity, popřípadě zvýšení množství proteinu NADP-ME bylo zjištěno v souvislosti se solným stresem v CAM i C<sub>3</sub> rostlinách<sup>7, 47–49</sup>. Také sucho zvýšilo aktivitu a/nebo expresi NADP-ME (cit.<sup>25, 50, 51</sup>). Zvýšená aktivita NADP-ME spolu se zvýšenou expresí byla pozorována v kořenech kukuřice po působení celulasu, jasmónátu a houbového elicitoru<sup>52</sup>, v listech kukuřice vystavených UV-B záření<sup>53</sup>.

Biotický stres způsobený virovou infekcí *Y virem bramboru* způsobil v rostlinách tabáku zvýšení aktivity (cit.<sup>35, 54</sup>), exprese a mRNA cytosolové isoformy NADP-ME, zatímco chloroplastová isoforma nebyla tímto stresem ovlivněna<sup>55</sup>.

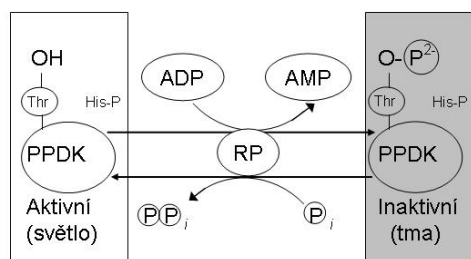
Význam NADP-ME v rostlinách za stresových podmínek je především v produkci redukčních ekvivalentů NADPH nutných pro biosyntézu fytoalexinů a dalších obranných látek, pyruvát může být navíc využit pro biosyntézu lipidů na opravy poškozených membrán. NADPH také slouží jako koenzym antioxidantních enzymů<sup>61</sup>.

## 5. Pyruvát, fosfátdikinasa

Posledním enzymem, který v C<sub>4</sub> rostlinách uzavírá cyklus fotosyntetické fixace CO<sub>2</sub>, je pyruvát, fosfát dikinasa (PPDK). V přítomnosti ATP a anorganického fosfátu katalyzuje regeneraci fosfoenolpyruvátu z pyruvátu. Současně se tvoří AMP a PP<sub>i</sub> (cit.<sup>56</sup>). Tento enzym je přítomen ve všech rostlinách, avšak v C<sub>3</sub> pouze v malém množství<sup>57</sup>. Fotosyntetická isoforma PPDK je lokalizována v chloroplastech, nefotosyntetická isoforma je přítomna v cytoplasmě. V C<sub>3</sub> rostlinách byla detegována aktivita PPDK v chloroplastech i cytoplasmě s podobnými vlastnostmi<sup>58</sup>.

Vzhledem k tomu, že fotosyntetický enzym limituje rychlost celého C<sub>4</sub> cyklu, je aktivita PPDK (C<sub>3</sub> i C<sub>4</sub> rostlin) regulována světlem pomocí reverzibilní fosforylace. Jak aktivaci defosforylací, tak inaktivaci fosforylací katalyzuje bifunkční regulační protein PPDK (obr. 3, cit.<sup>59</sup>). Další zvláštností tohoto regulačního proteinu je skutečnost, že k fosforylaci využívá ADP místo ATP a k defosforylaci je nutná přítomnost fosfátu, ze kterého vzniká pyrofosfát (obr. 3, cit.<sup>57, 59</sup>).

Byla prokázána souvislost PPDK se stresem; v kořenech rýže se zvýšila aktivita PPDK působením rostlinného hormonu kyseliny abscisové, polyethylenglykolu, hypoxie, chladu a zvýšené koncentrace soli<sup>32</sup>. Rovněž biotický stres způsobený virovou infekcí způsobil zvýšenou aktivitu PPDK v listech tabáku<sup>35, 54</sup>.



Obr. 3. Regulace aktivity PPDK fosforylací (převzato z cit.<sup>59</sup>); aktivita PPDK (C<sub>3</sub> i C<sub>4</sub> rostlin) je regulována světlem pomocí reverzibilní fosforylace bifunkčním regulačním proteinem PPDK (RP), který katalyzuje jak aktivaci defosforylací, tak inaktivaci fosforylací

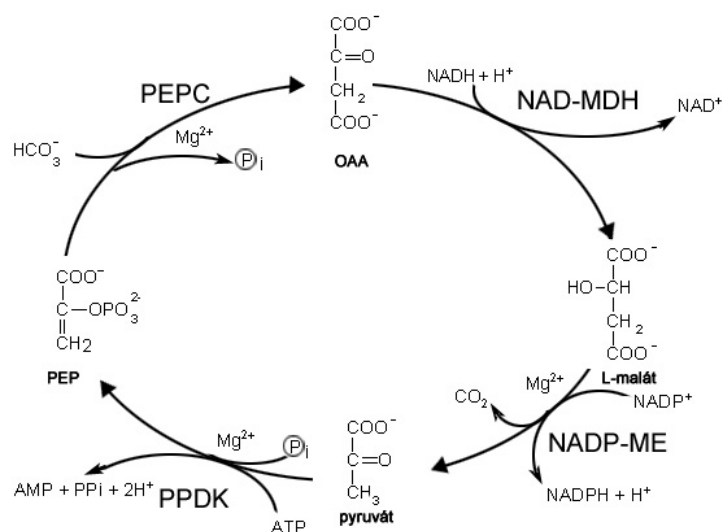
## 6. Kooperace nefotosyntetických isoform PEPC, NADP-ME a PPDK

Bylo zjištěno, že v rostlinách dochází při některých typech stresu, jako např. sucho, ale i v průběhu virové infekce, ke snížení rychlosti fotosyntézy a uzavírání průduchů. Za těchto podmínek byla zjištěna zvýšená aktivita PEPC, NADP-ME i PPDK v listech i kořenech tabáku<sup>35, 54</sup>.

Na obr. 4 je uveden cyklus, který by mohly katalyzovat enzymy PEPC, NAD-MDH, NADP-ME a PPDK i v C<sub>3</sub> rostlinách. V tomto cyklu je sice spotřebována energie ve formě ATP, avšak zároveň vznikají redukční ekvivalenty NADPH na úkor NADH. Zůstává otázkou, zda v C<sub>3</sub> rostlinách může tento cyklus poskytovat CO<sub>2</sub> pro Calvinův cyklus, obdobně jako v C<sub>4</sub> rostlinách. Při uzavírání průduchů se stává pravděpodobně pro rostlinu limitující množství CO<sub>2</sub>. Za těchto podmínek je však zdrojem CO<sub>2</sub> pro PEPC respirace nebo fotorespirace spíše než CO<sub>2</sub> z vnějšího prostředí. Zdrojem CO<sub>2</sub> může být také L-malát transportovaný z neautotrofních částí rostliny, který je dekarboxylován pomocí NADP-ME. L-Malát jako zdroj CO<sub>2</sub> pro Calvinův cyklus v C<sub>3</sub> rostlinách uvažují i jiní autoři<sup>60</sup>. Pro rostlinu může být výhodné i zvýšení průtoku metabolitů jen částí tohoto cyklu, protože umožňuje propojení základních metabolických drah.

## 7. Závěr

Regulace aktivity enzymů v buňce je důležitá nejen za fyziologických podmínek, ale především za podmínek nefyziologických, stresových. Mechanismus odpovědi rostliny na stres je v poslední době intenzivně studován, avšak menší pozornost je věnována změnám v primárním metabolismu rostlin za podmínek stresu; změna toku metabolitů jednotlivými metabolickými drahami je důležitá, jak už pro mobilizaci energetických zdrojů pro syntézu obranných látek, tak k udržení metabolismu ve „stavu nouze“. Z dosavadních výsledků výzkumu vyplývá, že enzymy PEPC, NADP-ME a PPDK se podílejí na přizpůsobení



Obr. 4. Předpokládané metabolické dráhy v C<sub>3</sub> rostlinách vystavených stresu; PEPC, fosfoenolpyruvátcarboxylasa; NAD-MDH, NAD-malátdehydrogenasa; NADP-ME, NADP-malátdehydrogenasa (oxaloacetát-dekarboxylační); PPKK, pyruvát, fosfátdikinasa; PEP, fosfoenolpyruvát; OAA, oxaloacetát

rostlinného metabolismu stresovým podmínkám. Poznání těchto změn je důležité pro hodnocení a výběr zemědělsky využívaných rostlin a jednotlivých kultivarů pro pěstování za podmínek stresu.

Autoři děkují za podporu následujícím grantům: MSM0021620808 a IM0505.

#### LITERATURA

- Raven J. A., Cockell C. S., De La Rocha C. L.: Philos. Trans. R. Soc. London, B Biol. Sci. 363, 2641 (2008).
- Badger M.: Photosynth. Res. 77, 83 (2003).
- Badger M. R., Price G. D.: J. Exp. Bot. 54, 609 (2003).
- Price G. D., Badger M. R., Woodger F. J., Long B. M.: J. Exp. Bot. 59, 1441 (2008).
- Buchanan B. B., Gruissem W., Jones R. L. (ed.): *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists, Rockville, Maryland, 2000.
- Hatch M. D., Slack C. R.: Biochem J. 101, 103 (1966).
- Chi W., Yang J., Wu N., Zhang F.: Biosci. Biotechnol. Biochem. 68, 1865 (2004).
- Edwards G. E., Franceschi V. R., Voznesenskaya E. V.: Annu. Rev. Plant Biol. 55, 173 (2004).
- O'Leary M. H.: Annu. Rev. Plant Physiol. 33, 297 (1982).
- Andreo C. S., Gonzalez D. H., Iglesias A. A.: FEBS Lett. 213, 1 (1987).
- Stiborová M.: Photosynthetica 22, 240 (1988).
- Izui K., Matsumura H., Furumoto T., Kai Y.: Annu. Rev. Plant Biol. 55, 69 (2004).
- Chollet R., Vidal J., O'Leary M. H.: Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 47, 273 (1996).
- Lepiniec L., Vidal J., Chollet R., Gadal P., Cretin C.: Plant Sci. 99, 111 (1994).
- Muller K., Doubnerová V., Synková H., Čerovská N., Ryšlavá H.: Biol. Chem. 390, 245 (2009).
- Černý M., Doubnerová V., Müller K., Ryšlavá H.: Biochimie 92, 1362 (2010).
- Latzko E., Kelly G. J.: Physiol. Vég. 21, 805 (1983).
- Sanchez R., Cejudo F. J.: Plant Physiol. 132, 949 (2003).
- O'Leary B., Rao S. K., Kim J., Plaxton W. C.: J. Biol. Chem. 284, 24797 (2009).
- Feria A. B., Alvarez R., Cochereau L., Vidal J., Garcia-Maurino S., Echevarria C.: Plant Physiol. 148, 761 (2008).
- Hofner R., Vazquez-Moreno L., Winter K., Bohnert H. J., Schmitt J. M.: Plant Physiol. 83, 915 (1987).
- Thomas J. C., De Armond R. L., Bohnert H. J.: Plant Physiol. 98, 626 (1992).
- Gonzalez M. C., Sanchez R., Cejudo F. J.: Planta 216, 985 (2003).
- Sanchez R., Flores A., Cejudo F. J.: Planta 223, 901 (2006).
- Doubnerová V., Miedzinska L., Dobrá J., Vaňková R., Ryšlavá H.: nepublikované výsledky.
- Sugiharto B., Sugiyama T.: Plant Physiol. 98, 1403 (1992).
- Penalzoa E., Munoz G., Salvo-Garrido H., Silva H., Corcuera L. J.: J. Exp. Bot. 56, 145 (2005).
- Gregory A. L., Hurley B. A., Tran H. T., Valentine A. J., She Y. M., Knowles V. L., Plaxton W. C.: Bio-

- chem. J. 420, 57 (2009).
29. Toyota K., Koizumi N., Sato F.: *J. Exp. Bot.* 54, 961 (2003).
  30. Nisi P. D., Zocchi G.: *J. Exp. Bot.* 51, 1903 (2000).
  31. Lopez-Millan A. F., Morales F., Andaluz S., Gogorce-na Y., Abadia A., De Las Rivas J., Abadia J.: *Plant Physiol.* 124, 885 (2000).
  32. Moons A., Valcke R., Van Montagu M.: *Plant J.* 15, 89 (1998).
  33. Fontaine V., Cabane M., Dizengremel P.: *Physiol. Plant.* 117, 445 (2003).
  34. Synková H., Semoradová Š., Schnablová R., Müller K., Pospíšilová J., Ryšlavá H., Malbeck J., Čeřovská N.: *Plant Sci.* 171, 607 (2006).
  35. Ryšlavá H., Müller K., Semoradová Š., Synková H., Čeřovská N.: *Photosynthetica* 41, 357 (2003).
  36. Ermolayev V., Weschke W., Manteuffel R.: *J. Exp. Bot.* 54, 2745 (2003).
  37. Edwards G. E., Andreo C. S.: *Phytochemistry* 31, 1845 (1992).
  38. Drincovich M. F., Casati P., Andreo C. S.: *FEBS Lett.* 490, 1 (2001).
  39. Müller G. L., Drincovich M. F., Andreo C. S., Lara M. V.: *Plant Cell Physiol.* 49, 469 (2008).
  40. Bukato G., Kochan Z., Swierczynski J.: *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 27, 47 (1995).
  41. Colombo S. L., Andreo C. S., Podestá F. E.: *Physiol. Plant.* 101, 821 (1997).
  42. Doubnerová V., Potůčková L., Müller K., Ryšlavá H.: *J. Serb. Chem. Soc.* 74, 893 (2008).
  43. Ryšlavá H., Doubnerová V., Müller K., Baťková P., Schnablová R., Liberda J., Synková H., Čeřovská N.: *Collect. Czech Chem. Commun.* 72, 1420 (2007).
  44. Wheeler M. C., Tronconi M. A., Drincovich M. F., Andreo C. S., Flügge U. I., Maurino V. G.: *Plant Physiol.* 139, 39 (2005).
  45. Fu Z. Y., Zhang Z. B., Hu X. J., Shao H. B., Ping X.: *C. R. Biol.* 332, 591 (2009).
  46. Wheeler M. C., Arias C. L., Tronconi M. A., Maurino V. G., Andreo C. S., Drincovich M. F.: *Plant Mol. Biol.* 67, 231 (2008).
  47. Cushman J. C., Bohnert H. J.: *Photosynth. Res.* 34, 103 (1992).
  48. Sun S. B., Shen Q. R., Wan J. M., Liu Z. P.: *Acta Biochim. Biophys. Sin.* 35, 423 (2003).
  49. Valderrama R., Corpas F. J., Carreras A., Gomez-Rodriguez M. V., Chaki M., Pedrajas J. R., Fernandez-Ocana A., Del Rio L. A., Barroso J. B.: *Plant Cell Environ.* 29, 1449 (2006).
  50. Guo P. G., Baum M., Grando S., Ceccarelli S., Bai G. H., Li R. H., Von Korff M., Varshney R. K., Graner A., Valkoun J.: *J. Exp. Bot.* 60, 3531 (2009).
  51. Synková H., Valcke R.: *Physiol. Plant.* 112, 513 (2001).
  52. Maurino V. G., Saigo M., Andreo C. S., Drincovich M. F.: *Plant Mol. Biol.* 45, 409 (2001).
  53. Casati P., Drincovich M. F., Edwards G. E., Andreo C. S.: *Braz. J. Med. Biol. Res.* 32, 1187 (1999).
  54. Doubnerová V., Janošková M., Synková H., Šubr Z., Čeřovská N., Ryšlavá H.: *Gen. Appl. Plant Physiol.* 33, 123 (2007).
  55. Doubnerová V., Müller K., Čeřovská N., Synková H., Spoustová P., Ryšlavá H.: *Int. J. Mol. Sci.* 10, 3583 (2009).
  56. Hatch M. D., Slack C. R.: *Biochem J.* 106, 141 (1968).
  57. Chastain C. J., Xu W., Parsley K., Sarath G., Hibberd J. M., Chollet R.: *Plant J.* 53, 854 (2008).
  58. Chastain C. J., Heck J. W., Colquhoun T. A., Voge D. G., Gu X. Y.: *Planta* 224, 924 (2006).
  59. Chastain C. J., Fries J. P., Vogel J. A., Randklev C. L., Vossen A. P., Dittmer S. K., Watkins E. E., Fiedler L. J., Wacker S. A., Meinhover K. C., Sarath G., Chollet R.: *Plant Physiol.* 128, 1368 (2002).
  60. Hibberd J. M., Quick W. P.: *Nature* 415, 451 (2002).
  61. Piterková J., Tománková K., Luhová L., Petřivalský M., Peč P.: *Chem. Listy* 99, 455 (2005).
  62. Kamlar M., Uhlík O., Kohout L., Harmatha J., Macek T.: *Chem. Listy* 104, 93 (2010).
  63. Kamlar M., Uhlík O., Chlubnová I., Kohout L., Harmatha J., Ježek R., Šanda M., Pišvejcová A., Macek T.: *Chem. Listy* 104, 215 (2010).
- H. Ryšlavá and V. Doubnerová** (*Department of Biochemistry, Faculty of Science, Charles University in Prague*): **Enzymes of the Hatch-Slack Cycle in C<sub>3</sub> Plants**
- Phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPC, EC 4.1.1.31), NADP-dependent malic enzyme (NADP-ME, EC 1.1.1.40) and pyruvate phosphate dikinase (PPDK, EC 2.7.9.1) are the enzymes that participate in reactions of the Hatch-Slack cycle in C<sub>4</sub> plants. The isoforms of these enzymes, which do not participate in photosynthesis, are present in all plants including the C<sub>3</sub> plants. This review is focused on the occurrence, gene families, regulation and possible functions of the above mentioned enzymes. PEPC is inhibited by L-malate, activated by D-glucose 6-phosphate and regulated by phosphorylation catalysed with specific PEPC kinase. Phosphorylated PEPC is characterized by a higher reaction rate, higher sensitivity to activation and lower sensitivity to inhibition. Similarly, PPDK is regulated by a specific PPDK regulatory protein, a most unusual bifunctional protein kinase/protein phosphatase. The function of PEPC in C<sub>3</sub> plants is replenishment of the citric acid cycle with intermediates, thus providing carbon skeletons for amino acid synthesis. PEPC in cooperation with malate dehydrogenase and NADP-ME produces NADPH for biosynthesis of fatty acids and specific defence compounds such as phytoalexins. The enhanced activities of PEPC, NADP-ME and PPDK under stress of various types could be a sign of their involvement in plant response to stress.

## KRÁSA A UŽITEČNOST NOVÝCH ELEKTRODOVÝCH MATERIÁLŮ

**VLASTIMIL VYSKOČIL, ALEŠ DAÑHEL, JAN FISCHER, VÍT NOVOTNÝ, DANA DEÝLOVÁ, JANA MUSILOVÁ-KARAOVÁ, LUCIE MAIXNEROVÁ, KAROLINA PECKOVÁ a JIŘÍ BAREK**

*Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra analytické chemie, UNESCO laboratoř elektrochemie životního prostředí, Albertov 6, 128 43 Praha 2  
vyskocil@natur.cuni.cz*

Došlo 5.8.10, přijato 10.11.10.

Klíčová slova: voltametrie, ampérometrie, stříbrné amalgámové elektrody, borem dopované diamantové filmové elektrody

### Obsah

1. Úvod
2. Stříbrné amalgámové elektrody
3. Borem dopované diamantové filmové elektrody
4. Závěr

### 1. Úvod

I v dnešní době fascinujících možností moderních spektrometrických a separačních metod hrají moderní elektroanalytické metody svoji nezastupitelnou roli<sup>1</sup>. Moderní voltametrické metody ve vsádkovém uspořádání či ampérometrické metody v uspořádání průtokovém mohou poskytnout neocenitelné služby, zejména při monitorování biologicky aktivních organických sloučenin významných z hlediska ochrany lidského zdraví. Dokazuje to celá řada přehledných referátů pocházejících z naší UNESCO laboratoře elektrochemie životního prostředí<sup>2–17</sup>. Hlavními výhodami elektroanalytických metod jsou nízké pořizovací a provozní náklady, vysoká citlivost, přijatelná selektivita, snadná miniaturizovatelnost a automatizovatelnost a v neposlední řadě snadná přenosnost lehkých analytických přístrojů umožňující jejich použití v terénu při velkoplošném monitorování různých škodlivých organických látek. Rozhodující pro praktický úspěch moderních voltametrických a ampérometrických metod je volba vhodné pracovní elektrody, která je srdcem příslušného přístroje a předurčuje parametry analytického stanovení (spektrum analytů, citlivost, přesnost, mez detekce a stanovitelnosti), ale i případné obtíže, zejména související s pasivací pra-

covní elektrody, ať už produkty elektrodové reakce nebo složkami analyzovaného roztoku. Jedním z nevhodnějších elektrodoových materiálů pro stanovení a detekci elektrochemicky redukovatelných organických sloučenin je rtuť (cit.<sup>1,2,7,13</sup>). Avšak i tento téměř ideální elektrodoový materiál má pochopitelně určité nevýhody, zejména mechanickou nestabilitu komplikující jeho použití při průtokových měřeních a měřeních v terénu. Určité komplikace souvisí i s ne zcela oprávněnými obavami z toxicity rtuti<sup>18</sup>, která však při správně prováděných měřeních nemůže hrát významnější roli.

Proto naše laboratoř již řadu let věnuje pozornost využití různých typů stříbrných amalgámových elektrod pro voltametrická a ampérometrická stanovení redukovatelných biologicky aktivních organických sloučenin. Řada výsledků bakalářských, diplomových a doktorských prací i prací středoškolských studentů v rámci Středoškolské odborné činnosti (SOC)<sup>19</sup> a v rámci projektů Cesta k vědě<sup>20</sup> a Otevřená věda II (cit.<sup>21</sup>), jejichž cílem je přilákat k vědecké práci nejtalentovanější příslušníky mladé generace, je přehledně shrnuta v první části tohoto příspěvku (viz kap. 2).

Pro stanovení elektrochemicky oxidovatelných organických látek se nejčastěji používá skelný uhlík<sup>22,23</sup>. V nedávné minulosti se však objevil nový, fascinující elektrodoový materiál – borem dopovaný mikrokrystalický či nanokrystalický diamantový film, o němž bylo již několikrát referováno i na stránkách tohoto časopisu<sup>1,24–28</sup>. Tento perspektivní elektrodoový materiál vykazuje minimální šum, nejširší potenciálové okno ze všech dosud známých elektrodoových materiálů, a navíc parafinický charakter jeho povrchu nepodporuje adsorpci většiny organických analytů<sup>5</sup>, takže jsou zde minimalizovány problémy s pasivací pracovní elektrody, která je největším problémem při praktické aplikaci většiny ostatních elektrodoových materiálů. Přehled metod stanovení stopových množství řady organických látek vypracovaných v naší laboratoři je shrnut ve druhé části tohoto příspěvku (viz kap. 3).

### 2. Stříbrné amalgámové elektrody

Tyto bezpochyby užitečné pracovní elektrody je možno připravit prakticky v každé laboratoři prostým naplněním vhodné skleněné trubičky práškovým stříbrem a jejím ponořením přes noc do kapalné rtuti<sup>29,30</sup>. Tím vznikne mechanicky stabilní a netoxický amalgám<sup>31–33</sup> (jak dokazují staleté zkušenosti s jeho používáním na přípravu zubních plomb)<sup>34</sup>. Vzniklý amalgám lze mechanicky vyleštit a připravit tak tzv. leštěnou stříbrnou pevnou amalgámovou elektrodu (polished silver solid amalgam electrode – p-AgSAE) (cit.<sup>3</sup>). Pro analytické účely se však lépe hodí rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgámová elektroda (mercury meniscus modified silver solid

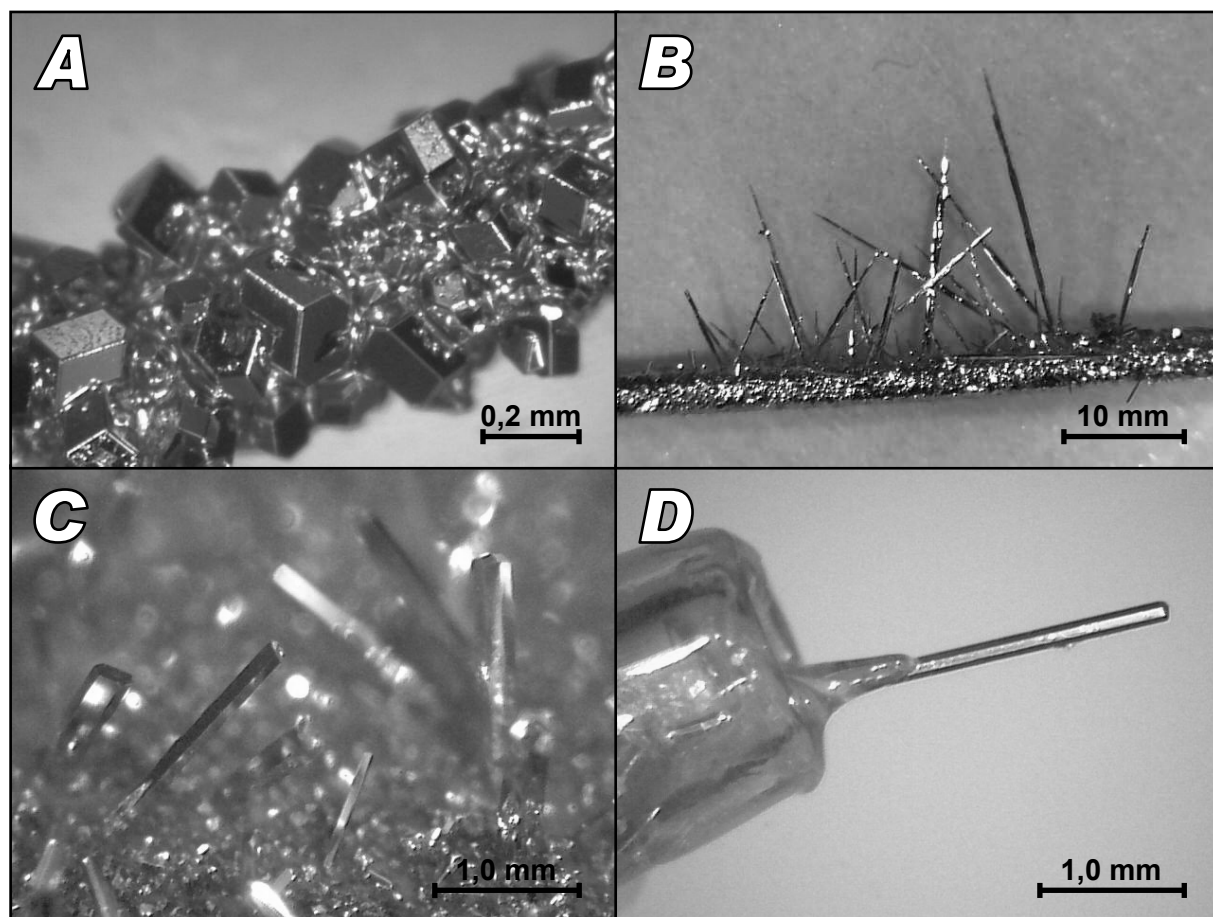
amalgam electrode – m-AgSAE) (cit.<sup>3</sup>), kterou lze snadno připravit krátkým ponořením p-AgSAE do kapalné rtuti. Tato elektroda vykazuje nižší šum a lepší opakovatelnost signálu. Vzhledem k omezenému rozsahu tohoto příspěvku odkazujeme čtenáře na podrobné přehledné práce<sup>3,8,14,30,35–37</sup>, kde se může dozvědět více o přípravě, vlastnostech, klasifikaci i praktických aplikacích tohoto netradičního elektrodového materiálu. Zajímavé možnosti nabízí i další typy stříbrných amalgámových elektrod, např. stříbrné amalgámové pastové elektrody s organickou pastovací kapalinou (AgSA-PE) (cit.<sup>30,38</sup>) či bez ní (AgA-PE) (cit.<sup>30,39,40</sup>), stříbrné amalgámové kompozitní elektrody<sup>4,41,42</sup> či stříbrné amalgámové elektrody na bázi jediného krystalu (CAgAE) (cit.<sup>14</sup>), které umožňují měření v jediné kapce roztoku či konstrukci miniaturizovaných cylindrických elektrochemických detektorů pro průtoková měření. Omezení rozsahem předkládaného příspěvku se však v následujícím textu zaměříme pouze na přehled praktických aplikací stříbrných pevných (m-AgSAE či p-AgSAE) a pastových (AgSA-PE či AgA-PE) amalgámových elektrod vyvinu-

tých v poslední době v naší laboratoři. Nicméně abychom dostáli slovu „krása“ v názvu tohoto příspěvku, uvádíme na obr. 1 fotografie krásných krystalů stříbrného amalgámu, jenž se používá ke konstrukci miniaturizovaných stříbrných amalgámových elektrod<sup>14</sup>.

Jak již bylo řečeno, jsou stříbrné amalgámové elektrody důstojnou náhradkou rtuťových elektrod v případě voltametrického či ampérometrického stanovení elektrochemicky redukovatelných látek. Strukturální vzorce vybraných látek studovaných v naší laboratoři jsou zobrazeny na obr. 2 a příslušné charakteristiky nově vyvinutých metod jsou shrnuty v tabulce I.

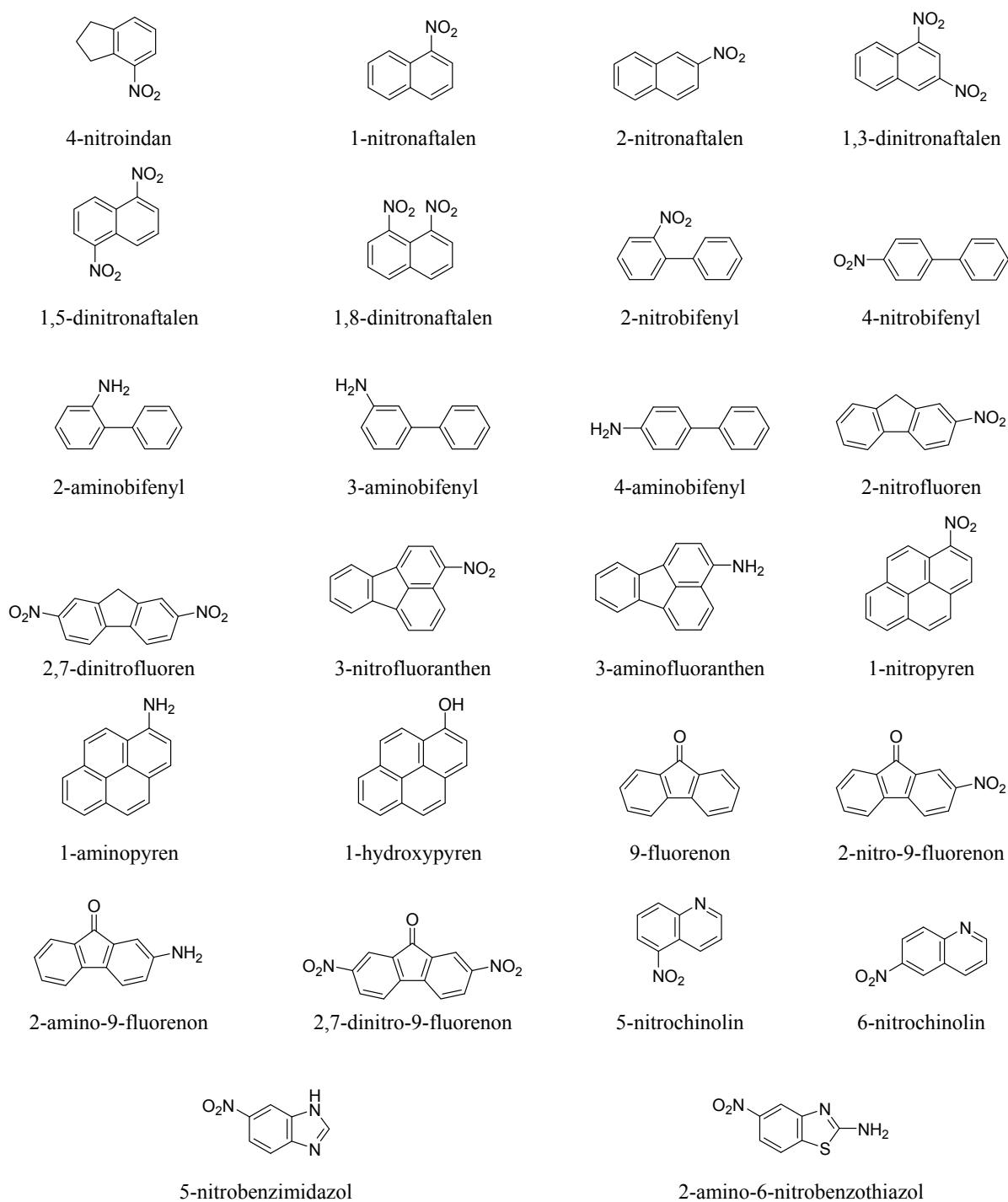
### 3. Borem dopované diamantové filmové elektrody

Borem dopovaná diamantová filmová elektroda (BDDFE) patří mezi nejnovější typy elektrod odpovídající

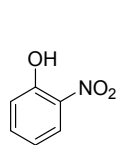


Obr. 1. Krychlově plošně centrované ( $\alpha$  fáze, obsah stříbra > 48 %), šesterečné ( $\beta$  fáze, obsah stříbra 33–48 %) a krychlově prostorově centrované ( $\gamma$  fáze, obsah stříbra 29–32,5 %) struktury<sup>43,44</sup> krystalů stříbrného amalgámu (A), růst dlouhých „jehel“ krystalů stříbrného amalgámu na poamalgamovaném stříbrném drátu (B), detail krystalů převážně šesterečné struktury rostoucích na stříbrné amalgámové pastě (C) a připravená krystalová stříbrná amalgámová elektroda ve 2  $\mu$ l pipetovací špičce izolovaná polystyrenovým filmem (D) (vše fotografováno pomocí Microscope Camera, Digitus, Taiwan)

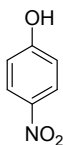
## A) Chemické karcinogeny



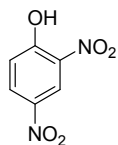
Obr. 2. Strukturní vzorce elektrochemicky redukovatelných či oxidovatelných sloučenin stanovovaných v naší laboratoři na různých typech stříbrných amalgámových elektrod či borem dopovaných diamantových filmových elektrod

**B) Pesticidy**

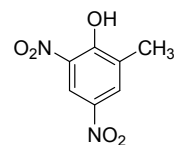
2-nitrofenol



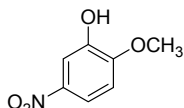
4-nitrofenol



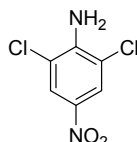
2,4-dinitrofenol



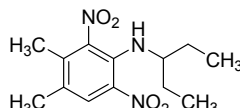
2-methyl-4,6-dinitrofenol



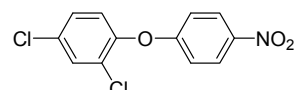
2-methoxy-5-nitrofenol



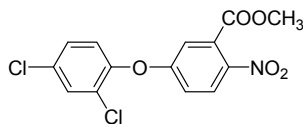
dichloran



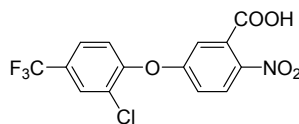
pendimethalin



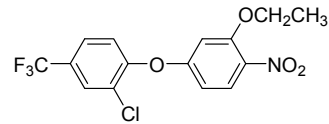
nitrofen



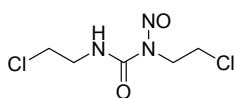
bifenox



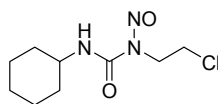
acifluorfen



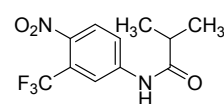
oxyfluorfen

**C) Léčiva**

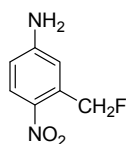
carmustin



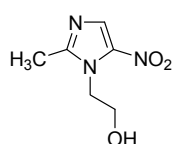
lomustin



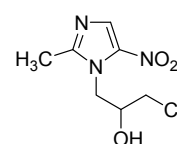
flutamid



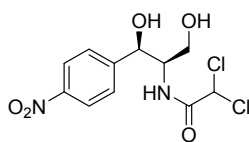
3-fluoromethyl-4-nitroanilin



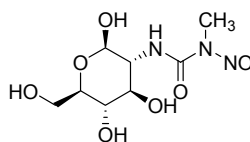
metronidazol



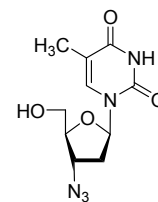
ornidazol



chloramfenikol

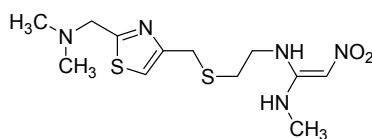


streptozotocin

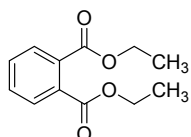


azidothymidin

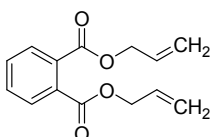




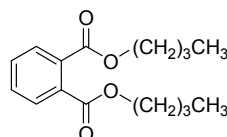
nizatidin

**D) Polutanty životního prostředí**

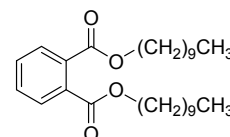
diethylfthalát



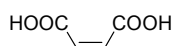
diallylfthalát



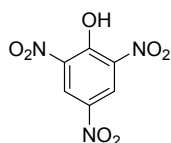
dibutylfthalát



didecylfthalát



maleinová kyselina

**E) Výbušniny**

pikrová kyselina

Obr. 2. Pokračování

konceptu tzv. zelené analytické chemie. Samotný diamant se vyznačuje mimořádnou mechanickou i chemickou stabilitou. Je jedním z nejlepších přírodních izolátorů a pro jeho elektroanalytické využití je nutné jej dopovat atomy jiných prvků, nejčastěji atomy boru<sup>70,71</sup>. Obvyklým způsobem se BDDFE připravují technikou chemické depozice par (CVD) – tyto elektrody jsou označovány jako „as-grown CVD films“. Na svém povrchu mají zpravidla monovrstvu vodíku, čehož je dosaženo zaváděním vodíku do reakční komory v závěrečné fázi depozice. Povrch diamantu s volnými vazbami ukončenými vodíkem je tudíž hydrofobní a poměrně málo aktivní. Naproti tomu oxidovaný povrch diamantu obsahuje kyslíkaté funkční skupiny, a je tudíž hydrofilní. Hlavní výhody, které činí borem dopovaný diamant neobyčejně perspektivním elektrodovým materiálem, jsou<sup>5,25,26</sup>:

- nízká kapacita elektrické dvojvrstvy mající za následek nízký zbytkový proud a velmi malý šum,

- široké potenciálové okno (např. od  $-1,5$  V do  $+1,5$  V v prostředí  $0,1 \text{ mol l}^{-1}$  kyseliny sírové, u zvláště kvalitních filmů se uvádí šířka potenciálového okna až 5 V),
- minimální náchylnost k pasivaci elektrody produkty elektrodové reakce či interferenty v analyzovaném roztoku díky parafinickému charakteru povrchu ( $\text{sp}^3$  hybridizované atomy uhlíku) mající za následek nízkou adsorpci látek, což snižuje pravděpodobnost deaktivace zablokováním aktivních center na povrchu,
- mechanická robustnost a stabilita umožňující využití těchto elektrod v průtokových systémech,
- biokompatibilita umožňující snadnou implantaci těchto elektrod do živé tkáně s minimální pravděpodobností negativní biologické odezvy.

Elektrochemické vlastnosti diamantových filmových elektrod jsou ovlivněny zejména typem dopantu a jeho koncentrací, morfologickými vlastnostmi (přítomností povrchových defektů), přítomností nečistot uhlíku nemajících strukturu diamantu a druhem povrchové terminace (atomy vodíku, fluoru, kyslíku aj.). V naší laboratoři se nejčastěji využívá diamantového filmu terminovaného vodíkem. Takový povrch má obdobnou strukturu jako alkany, a proto má jen velmi nízkou tendenci adsorbovat polární sloučeniny z roztoku. Díky tomu jsou elektrodové procesy, které zahrnují adsorpci intermediátu na povrch elektrody (např. vývoj vodíku, kyslíku nebo halogenů), silně zpomaleny<sup>5</sup>.

Další vlastností BDDFE ovlivňující jejich elektrochemické chování je jejich mikroskopická či nanoskopická hrubost, čili velikost narostlých mikrokrystalků či nano-

Tabulka I

Přehled voltametriky a ampérometriky stanovovaných látek na různých typech pracovních stříbrných amalgámových elektrod

Sloučenina	Pracovní elektroda	Technika	Prostředí/matrice	Lineární dynamický rozsah [ $\mu\text{mol l}^{-1}$ ]	$L_Q^a$ [ $\mu\text{mol l}^{-1}$ ]	Lit.
<i>CHEMICKÉ KARCINOGENY</i>						
2-Amino-6-nitrobenzothiazol	m-AgSAE	DCV	BR pufr pH 4,0 – methanol (9:1)	0,2–100	0,7	45
		DPV	BR pufr pH 10,0 – methanol (9:1)	0,2–100	0,4	45
	p-AgSAE	DCV	BR pufr pH 10,0 – methanol (9:1)	2–100	3	45
		DPV	BR pufr pH 3,0 – methanol (9:1)	2–100	3	45
2-Amino-9-fluorenon	m-AgSAE	DPV	BR pufr pH 4,0 – methanol (9:1)	0,1–100	0,2	— <sup>b,1</sup>
2,7-Dinitrofluoren	m-AgSAE	DCV	BR pufr pH 8,0 – methanol (1:1)	0,2–10	0,3	46
		DPV	BR pufr pH 8,0 – methanol (1:1)	0,2–10	0,2	46
		DPV	pitná voda – BR pufr pH 8,0 (9:1)	0,2–1	0,3	46
		DPV	říční voda – BR pufr pH 8,0 (9:1)	0,2–1	0,5	46
2,7-Dinitro-9-fluorenon	m-AgSAE	DCV	BR pufr pH 4,0 – methanol (1:1)	0,2–10	0,5	46
		DPV	BR pufr pH 4,0 – methanol (1:1)	0,1–10	0,2	46
		DPV	pitná voda – BR pufr pH 4,0 (9:1)	0,2–1	0,3	46
		DPV	říční voda – BR pufr pH 4,0 (9:1)	0,2–1	0,4	46
1,3-Dinitronaftalen	m-AgSAE	DPV	BR pufr pH 10,0 – methanol (1:1)	1–100	2	47
	AgSA-PE	DPV	BR pufr pH 6,0 – methanol (1:1)	1–100	1	48
1,5-Dinitronaftalen	m-AgSAE	DPV	BR pufr pH 10,0 – methanol (1:1)	1–100	1	47
	AgSA-PE	DPV	BR pufr pH 12,0 – methanol (1:1)	1–100	2	48
1,8-Dinitronaftalen	m-AgSAE	DPV	BR pufr pH 10,0 – methanol (1:1)	0,25–100	0,5	47
	AgSA-PE	DPV	BR pufr pH 8,0 – methanol (1:1)	1–100	1	48
9-Fluorenon	m-AgSAE	DCV	BR pufr pH 8,0 – methanol (1:1)	0,8–40	0,9	49
		DPV	BR pufr pH 10,0 – methanol (1:1)	0,8–20	0,5	49
5-Nitrobenzimidazol	m-AgSAE	DCV	BR pufr pH 8,0	0,2–100	0,3	50
		DPV	BR pufr pH 8,0	0,2–100	0,6	50
	p-AgSAE	DCV	BR pufr pH 8,0	0,2–100	0,8	50
		DPV	BR pufr pH 8,0	0,2–100	0,5	50
	AgA-PE	DCV	BR pufr pH 7,0	0,2–100	0,2	51
		DPV	BR pufr pH 5,0	0,2–100	0,2	51
2-Nitrobifenylyl	m-AgSAE	DCV	BR pufr pH 6,0 – methanol (1:1)	0,2–100	0,4	52
		DPV	BR pufr pH 8,0 – methanol (1:1)	0,2–100	0,3	52
4-Nitrobifenylyl	m-AgSAE	DCV	0,25 mol l <sup>-1</sup> acetátový pufr pH 4,8 – methanol (7:3)	0,4–100	0,2	52
		DCV	pitná voda – 0,25 mol l <sup>-1</sup> acetátový pufr pH 4,8 (9:1)	0,1–1	0,2	52
		DPV	0,25 mol l <sup>-1</sup> acetátový pufr pH 4,8 – methanol (7:3)	0,4–100	0,2	52
		DPV	pitná voda – 0,25 mol l <sup>-1</sup> acetátový pufr pH 4,8 (9:1)	0,1–1	0,2	52
3-Nitrofluoranthen	m-AgSAE	DPV	0,01 mol l <sup>-1</sup> NaOH – methanol (1:9)	0,4–10	0,4	53
		AdSDPV	0,01 mol l <sup>-1</sup> NaOH – methanol (1:1)	0,02–1	0,03	53

Tabulka I  
Pokračování

Sloučenina	Pracovní elektroda	Technika	Prostředí/matrice	Lineární dynamický rozsah [ $\mu\text{mol l}^{-1}$ ]	$L_Q^a$ [ $\mu\text{mol l}^{-1}$ ]	Lit.	
2-Nitrofluoren	m-AgSAE	DCV	BR pufr pH 10,0 – methanol (1:1)	1–100	2	46	
		DPV	BR pufr pH 10,0 – methanol (1:1)	0,2–100	0,2	46	
		AdSDPV	$1 \cdot 10^{-4}$ mol $\text{l}^{-1}$ LiOH – methanol (1:1)	0,001–0,1	0,002	46	
		DPV	pitná voda – BR pufr pH 10,0 (9:1)	0,2–1	0,2	46	
		DPV	říční voda – BR pufr pH 10,0 (9:1)	0,2–1	0,4	46	
2-Nitro-9-fluorenon	m-AgSAE	DCV	BR pufr pH 8,0 – methanol (1:1)	0,4–10	0,5	46	
		DPV	BR pufr pH 9,0 – methanol (1:1)	0,2–10	0,4	46	
		DPV	pitná voda – BR pufr pH 9,0 (9:1)	0,2–1	0,4	46	
		DPV	říční voda – BR pufr pH 9,0 (9:1)	0,2–1	0,5	46	
5-Nitrochinolin	m-AgSAE	DCV	0,05 mol $\text{l}^{-1}$ $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ pH 9,0	0,4–100	0,5	54	
		DPV	0,05 mol $\text{l}^{-1}$ $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ pH 9,0	0,2–100	0,3	54	
		FIA-ED (WJ)	0,05 mol $\text{l}^{-1}$ $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ pH 9,0	2–100	3	54	
		FIA-ED (WJ)	pitná voda – 0,05 mol $\text{l}^{-1}$ $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ pH 9,0	2–100	4	54	
		FIA-ED (WJ)	říční voda – 0,05 mol $\text{l}^{-1}$ $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ pH 9,0	2–100	2	54	
6-Nitrochinolin	m-AgSAE	DCV	BR pufr pH 7,0	0,4–100	0,6	54	
		DPV	0,01 mol $\text{l}^{-1}$ NaOH	0,2–100	0,3	54	
4-Nitroindan	m-AgSAE	DCV	BR pufr pH 5,0 – methanol (1:1)	0,1–100	0,1	55	
		DPV	BR pufr pH 9,0 – methanol (1:1)	0,1–100	0,1	55	
1-Nitronaftalen	m-AgSAE	DPV	BR pufr pH 7,0 – methanol (9:1)	0,2–100	0,3	56	
		DPV	pitná voda – BR pufr pH 7,0 (9:1)	0,4–1	0,5	56	
		DPV	říční voda – BR pufr pH 7,0 (9:1)	0,8–10	0,8	56	
2-Nitronaftalen	m-AgSAE	DPV	BR pufr pH 7,0 – methanol (9:1)	0,4–100	0,5	56	
		DPV	pitná voda – BR pufr pH 7,0 (9:1)	0,4–1	0,5	56	
		DPV	říční voda – BR pufr pH 7,0 (9:1)	0,6–10	0,7	56	
1-Nitropyren	m-AgSAE	DCV	0,01 mol $\text{l}^{-1}$ NaOH – methanol (3:7)	1–100	3	57	
		DPV	0,01 mol $\text{l}^{-1}$ NaOH – methanol (3:7)	0,1–100	0,6	57	
<i>PESTICIDY</i>							
Acifluorfen	m-AgSAE	DPV	BR pufr pH 12,0 – methanol (1:1)	1–100	3	58	
Bifenox	m-AgSAE	DPV	BR pufr pH 9,0 – methanol (1:9)	0,1–100	0,3	59	
2,4-Dinitrofenol	m-AgSAE	DPV	BR pufr pH 4,0	0,1–100	2	60	
		p-AgSAE	DPV	BR pufr pH 5,0	0,1–100	3	60
		p-AgSAE	HPLC-ED (TL)	0,05 mol $\text{l}^{-1}$ fosfátový pufr pH 6,0 – methanol (7:3)	10–2500	5	61
2-Methoxy-5-nitrofenol	p-AgSAE	HPLC-ED (WJ)	0,05 mol $\text{l}^{-1}$ fosfátový pufr pH 6,0 – methanol (7:3)	25–2500	10	61	
		HPLC-ED (TL)	0,05 mol $\text{l}^{-1}$ fosfátový pufr pH 6,0 – methanol (7:3)	10–2500	10	61	
2-Methoxy-5-nitrofenol	p-AgSAE	HPLC-ED (WJ)	0,05 mol $\text{l}^{-1}$ fosfátový pufr pH 6,0 – methanol (7:3)	25–2500	25	61	
		HPLC-ED (TL)	0,05 mol $\text{l}^{-1}$ fosfátový pufr pH 6,0 – methanol (7:3)	25–2500	25	61	
2-Methyl-4,6-dinitrofenol	m-AgSAE	DPV	BR pufr pH 4,0	0,2–10	0,2	62	

Tabulka I  
Pokračování

Sloučenina	Pracovní elektroda	Technika	Prostředí/matrice	Lineární dynamický rozsah [ $\mu\text{mol l}^{-1}$ ]	$L_Q^a$ [ $\mu\text{mol l}^{-1}$ ]	Lit.
Nitrofen	m-AgSAE	DPV	BR pufr pH 3,0 – methanol (1:1)	0,6–10	0,9	58
2-Nitrofenol	m-AgSAE	DPV	BR pufr pH 8,0	1–100	1	60
	p-AgSAE	DPV	BR pufr pH 5,0	1–100	1	60
	m-AgSAE	DPV po SPE	BR pufr pH 8,0 – methanol (4:6) (SPE z deionizované vody)	0,02–1	0,02	60
		DPV po SPE	BR pufr pH 8,0 – methanol (4:6) (SPE z pitné vody)	0,02–1	0,02	60
	p-AgSAE	HPLC-ED (TL)	0,05 mol $\text{l}^{-1}$ fosfátový pufr pH 6,0 – methanol (7:3)	10–2500	10	61
		HPLC-ED (WJ)	0,05 mol $\text{l}^{-1}$ fosfátový pufr pH 6,0 – methanol (7:3)	25–2500	25	61
4-Nitrofenol	m-AgSAE	DPV	BR pufr pH 6,0	1–100	1	60
	p-AgSAE	DPV	BR pufr pH 6,0	1–100	3	60
	AgA-PE	DPV	BR pufr pH 3,0	0,2–100	0,3	39
	p-AgSAE	HPLC-ED (TL)	0,05 mol $\text{l}^{-1}$ fosfátový pufr pH 6,0 – methanol (7:3)	10–2500	10	61
			HPLC-ED (WJ)	0,05 mol $\text{l}^{-1}$ fosfátový pufr pH 6,0 – methanol (7:3)	25–2500	25
Oxyfluorfen	m-AgSAE	DPV	BR pufr pH 12,0 – methanol (1:1)	0,2–10	0,3	58
Pendimethalin	m-AgSAE	DPV	BR pufr pH 7,0 – methanol (1:1)	0,2–10	0,3	53
<i>LÉČIVA</i>						
Azidothymidin	m-AgSAE	DPV	0,05 mol $\text{l}^{-1}$ $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ pH 9,0	0,4–1500	0,4	63
	p-AgSAE	DPV	0,05 mol $\text{l}^{-1}$ $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ pH 9,0	0,6–1500	0,6	63
Carmustin	m-AgSAE	DCV	BR pufr pH 7,0	2–100	0,8	64
		DPV	BR pufr pH 7,0	2–100	0,7	64
		FIA-ED (WJ)	BR pufr pH 7,0	6–100	7	64
Flutamid	m-AgSAE	DCV	BR pufr pH 7,0 – methanol (9:1)	2–100	5	65
		DPV	BR pufr pH 7,0 – methanol (9:1)	2–100	3	65
Lomustin	m-AgSAE	DCV	0,05 mol $\text{l}^{-1}$ acetátový pufr pH 4,0 – methanol (9:1)	2–100	3	64
		DPV	0,05 mol $\text{l}^{-1}$ acetátový pufr pH 4,0 – methanol (9:1)	2–100	2	64
Metronidazol	m-AgSAE	DPV	BR pufr pH 10,0	0,2–100	0,3	66
4-Nitro-3-fluoromethylanilin	m-AgSAE	DCV	BR pufr pH 8,0 – methanol (9:1)	0,4–100	0,3	67
		DPV	BR pufr pH 8,0 – methanol (9:1)	0,8–100	0,7	67
Nizatidin	m-AgSAE	DCV	BR pufr pH 3,0	0,2–100	0,3	– <sup>b,II</sup>
		DPV	BR pufr pH 3,0	0,2–100	0,3	– <sup>b,II</sup>
Ornidazol	m-AgSAE	DPV	BR pufr pH 10,0	0,2–100	0,4	66
Streptozotocin	m-AgSAE	DCV	BR pufr pH 6,0	0,2–100	0,4	64
		DPV	BR pufr pH 6,0	0,2–100	0,2	64

Tabulka I  
Pokračování

Sloučenina	Pracovní elektroda	Technika	Prostředí/matrice	Lineární dynamický rozsah [ $\mu\text{mol l}^{-1}$ ]	$L_Q^a$ [ $\mu\text{mol l}^{-1}$ ]	Lit.
<i>VÝBUŠNINY</i>						
Pikrová kyselina	AgA-PE	DPV	BR pufr pH 2,0	0,2–100	0,06	68
		DPV	pitná voda – BR pufr pH 2,0 (9:1)	0,2–1	0,1	68
		DPV	říční voda – BR pufr pH 2,0 (9:1)	0,2–1	0,1	68
<i>POLUTANTY ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ</i>						
Diallylftalát	m-AgSAE	DPV	0,1 mol $\text{l}^{-1}$ TMAB v methanolu	2–100	4	69
Dibutylftalát	m-AgSAE	DPV	0,1 mol $\text{l}^{-1}$ TMAB v methanolu	2–100	2	69
Didecyltalát	m-AgSAE	DPV	0,1 mol $\text{l}^{-1}$ TMAB v methanolu	2–100	4	69
Diethylftalát	m-AgSAE	DPV	0,1 mol $\text{l}^{-1}$ TMAB v methanolu	2–100	3	69
Maleinová kyselina	AgA-PE	DPV	BR pufr pH 2,0	2–100	2	40
		DPV	pitná voda – BR pufr pH 2,0 (1:1)	2–100	3	40
		DPV	říční voda – BR pufr pH 2,0 (1:1)	20–100	7	40

<sup>a</sup> Mez stanovitelnosti, <sup>b</sup> doposud nepublikované výsledky získané v rámci Středoškolské odborné činnosti, projektu Otevřená věda II, projektu Cesta k vědě či středoškolské odborné praxe studenty středních škol: <sup>1</sup> Tomáš Moravec (Střední průmyslová škola sdělovací techniky, Praha), <sup>11</sup> Jan Koštejn (Střední škola informatiky a služeb, Dvůr Králové nad Labem)

krystalků borem dopovaného diamantu, kterou lze ovlivnit typem substrátu a podmínkami během procesu chemické depozice par. S rostoucí hrubostí povrchu se zužuje dostupné potenciálové okno a zvyšuje se diferenciální kapacita a elektrochemická aktivita. Hrubost povrchu ovlivňuje kinetiku sledovaných elektrodových reakcí, přičemž s rostoucí hrubostí se zpravidla zvyšuje i jejich reverzibilita. Rostoucí hrubost povrchu usnadňuje přenos náboje a umožňuje přechod z oblasti kinetické kontroly do oblasti difuzní kontroly elektrodových reakcí, což může být výhodné z hlediska elektroanalytických aplikací<sup>72</sup>.

Elektrody na bázi borem dopovaného diamantu mají před sebou slibné perspektivy dalšího vývoje. Přestože nemohou zcela nahradit elektrody na bázi rtuti či skelného uhlíku, řada jejich vlastností je z hlediska elektrochemických senzorů mimořádně užitečná. Tato fakta byla potvrzena i řadou metod (jejich výčet je přehledně uspořádan v tabulce II), které byly s použitím těchto elektrod vyvinuty v naší laboratoři v posledních letech pro stanovení biologicky významných látek. Jedná se o pestrou paletu organických látek, jako jsou nebezpečné chemické karcinogeny, pesticidy, léčiva či výbušniny (viz obr. 2), se kterými řada lidí denně přichází do styku, a které se tak stávají mnohdy nechtěnou, ale často i nezbytnou součástí našeho moderního životního stylu. Kromě neobyčejné užitečnosti BDDFE se skutečně jedná o krásné elektrodové materiály, což potvrzují mikrofotografie mikro- či nanokrystalických filmů v citovaných přehledných referátech.

#### 4. Závěr

Obrovská rozmanitost problémů nastolovaných před moderní analytickou chemií vyžaduje stejnou rozmanitost přístupů, metod a materiálů používaných pro jejich optimální řešení. Přes obrovský potenciál současných spektrometrických a separačních metod je zřejmé, že soudobé elektrochemické a elektroanalytické metody, zvláště pokud využívají moderních elektrodových materiálů a progresivních přístupů, mohou v řadě případů představovat konkurenceschopnou alternativu. Stříbrné amalgámové elektrody i borem dopované diamantové filmové elektrody lze již nyní použít ve velkém množství analytických aplikací a zcela jistě před sebou mají další perspektivní vývoj. Přes všechnu jejich současnou užitečnost i budoucí vědeckotechnický potenciál však také nesmíme zapomínat na krásu připravovaných elektrodových materiálů, které i tímto obohacují život a práci elektroanalytických chemiků. I z tohoto pohledu se můžeme na naši práci často dívat a k připomenutí tohoto pohledu by měl přispět i tento příspěvek.

#### Seznam zkratk

AdSDPV	adsorpční rozpouštěcí diferenční pulsní voltametrie
AgA-PE	stříbrná amalgámová pastová elektroda
AgSA-PE	stříbrná pevná amalgámová pastová elektroda
BR pufr	Brittonův-Robinsonův pufr
DCV	voltametrie s lineárním nárůstem potenciálu

Tabulka II

Přehled voltametricky a ampérometricky stanovovaných látek na různých typech pracovních borem dopovaných diamantových filmových elektrod

Sloučenina	Pracovní elektroda	Technika	Prostředí/matrice	Lineární dynamický rozsah [ $\mu\text{mol l}^{-1}$ ]	$L_Q^a$ [ $\mu\text{mol l}^{-1}$ ]	Lit.
<i>CHEMICKÉ KARCINOGENY</i>						
2-Aminobifenyl	BDDFE <sup>b</sup>	DPV, oxidace	BR pufr pH 7,0	0,1–10	0,1	73
	BDDFE <sup>c</sup>	DPV, oxidace	BR pufr pH 12,0 <sup>d</sup>	4–10	2–3 <sup>e,f</sup>	74
	BDDFE <sup>c</sup>	HPLC-ED (TL), oxidace	0,01 mol l <sup>-1</sup> acetátový pufr pH 5,0 – acetonitril – methanol (40:30:30)	0,4–10	0,2	27,75
			pitná voda – 0,01 mol l <sup>-1</sup> acetátový pufr pH 5,0 – acetonitril – methanol (40:30:30)	0,2–10	0,2	27,75
		HPLC-ED (TL), oxidace	říční voda – 0,01 mol l <sup>-1</sup> acetátový pufr pH 5,0 – acetonitril – methanol (40:30:30)	0,1–10	0,2	27,75
			0,01 mol l <sup>-1</sup> acetátový pufr pH 5,0 – acetonitril – methanol (40:30:30) (SPE z pitné vody)	0,025–0,1	0,003	27,75
		HPLC-ED (TL) po SPE, oxidace	0,01 mol l <sup>-1</sup> acetátový pufr pH 5,0 – acetonitril – methanol (40:30:30) (SPE z říční vody)	0,025–0,1	0,008	27,75
			0,01 mol l <sup>-1</sup> acetátový pufr pH 5,0 – acetonitril – methanol (40:30:30)	0,06–100	0,04 <sup>f</sup>	74
3-Aminobifenyl	BDDFE <sup>b</sup>	DPV, oxidace	BR pufr pH 8,0	0,2–8	0,1	73
	BDDFE <sup>c</sup>	DPV, oxidace	BR pufr pH 12,0 <sup>g</sup>	4–10	2 <sup>e,f</sup>	74
	BDDFE <sup>c</sup>	HPLC-ED (TL), oxidace	0,01 mol l <sup>-1</sup> acetátový pufr pH 5,0 – acetonitril – methanol (40:30:30)	0,2–10	0,3	27,75
			pitná voda – 0,01 mol l <sup>-1</sup> acetátový pufr pH 5,0 – acetonitril – methanol (40:30:30)	0,2–10	0,3	27,75
		HPLC-ED (TL), oxidace	říční voda – 0,01 mol l <sup>-1</sup> acetátový pufr pH 5,0 – acetonitril – methanol (40:30:30)	0,2–10	0,3	27,75
			0,01 mol l <sup>-1</sup> acetátový pufr pH 5,0 – acetonitril – methanol (40:30:30) (SPE z pitné vody)	0,0025–0,1	0,004	27,75
		HPLC-ED (TL) po SPE, oxidace	0,01 mol l <sup>-1</sup> acetátový pufr pH 5,0 – acetonitril – methanol (40:30:30) (SPE z říční vody)	0,0025–0,1	0,01	27,75
			0,01 mol l <sup>-1</sup> acetátový pufr pH 5,0 – acetonitril – methanol (40:30:30)	0,06–100	0,04 <sup>f</sup>	74
4-Aminobifenyl	BDDFE <sup>b</sup>	DPV, oxidace	BR pufr pH 9,0	0,1–10	0,3	73
	BDDFE <sup>c</sup>	DPV, oxidace	BR pufr pH 12,0 <sup>h</sup>	4–10	0,2–0,3 <sup>i,f</sup>	74
		DPV, oxidace	BR pufr pH 12,0 <sup>j</sup>	4–10	0,3–0,4 <sup>k,f</sup>	74
	BDDFE <sup>c</sup>	HPLC-ED (TL), oxidace	0,01 mol l <sup>-1</sup> acetátový pufr pH 5,0 – acetonitril – methanol (40:30:30)	0,2–10	0,5	27,75
			pitná voda – 0,01 mol l <sup>-1</sup> acetátový pufr pH 5,0 – acetonitril – methanol (40:30:30)	0,2–10	0,6	27,75
		HPLC-ED (TL), oxidace	říční voda – 0,01 mol l <sup>-1</sup> acetátový pufr pH 5,0 – acetonitril – methanol (40:30:30)	0,2–10	0,6	27,75

Tabulka II  
Pokračování

Sloučenina	Pracovní elektroda	Technika	Prostředí/matrice	Lineární dynamický rozsah [ $\mu\text{mol l}^{-1}$ ]	$L_Q^a$ [ $\mu\text{mol l}^{-1}$ ]	Lit.
3-Aminofluoranthen	BDDFE <sup>b</sup>	HPLC-ED (TL) po SPE, oxidace	0,01 mol l <sup>-1</sup> acetátový pufr pH 5,0 – acetonitril – methanol (40:30:30) (SPE z pitné vody)	0,005–0,1	0,01	27,75
		HPLC-ED (TL) po SPE, oxidace	0,01 mol l <sup>-1</sup> acetátový pufr pH 5,0 – acetonitril – methanol (40:30:30) (SPE z říční vody)	0,005–0,1	0,02	27,75
		HPLC-ED (WJ), oxidace	0,01 mol l <sup>-1</sup> acetátový pufr pH 5,0 – acetonitril – methanol (40:30:30)	0,02–100	0,04 <sup>f</sup>	74
		DPV, oxidace	BR pufr pH 4,0 – methanol (1:1)	0,2–10	0,2	76
1-Aminopyren	BDDFE <sup>b</sup>	HPLC-ED (TL), oxidace	0,01 mol l <sup>-1</sup> fosfátový pufr pH 4,0 – methanol (1:9)	0,02–100	0,05	77
		DPV, oxidace	BR pufr pH 3,0 – methanol (3:7)	0,1–10	0,2	28
1-Hydroxypyren	BDDFE <sup>1</sup>	HPLC-ED (WJ), oxidace	0,05 mol l <sup>-1</sup> fosfátový pufr pH 5,0 – methanol (2:8)	0,1–10	0,2	78
		HPLC-ED (WJ) po SPE, oxidace	0,05 mol l <sup>-1</sup> fosfátový pufr pH 5,0 – methanol (2:8) (SPE z moči)	0,01–10	0,03	78
		DPV, oxidace	BR pufr pH 5,0 – methanol (3:7)	0,1–10	0,3	28
		HPLC-ED (WJ), oxidace	0,05 mol l <sup>-1</sup> fosfátový pufr pH 5,0 – methanol (2:8)	0,1–10	0,3	78
3-Nitrofluoranthen	BDDFE <sup>b</sup>	HPLC-ED (WJ) po SPE, oxidace	0,05 mol l <sup>-1</sup> fosfátový pufr pH 5,0 – methanol (2:8) (SPE z moči)	0,01–10	0,03	78
		DPV, redukce	BR pufr pH 4,0 – methanol (1:1)	0,2–10	0,03	76
2-Nitrofluoren	BDDFE <sup>1</sup>	DCV, redukce	BR pufr pH 3,0 – methanol (1:1)	0,1–100	0,2	79
		DPV, redukce	BR pufr pH 8,0 – methanol (1:1)	0,1–100	0,4	79
1-Nitropyren	BDDFE <sup>1</sup>	DPV, redukce	BR pufr pH 3,0 – methanol (3:7)	1–100	0,8	28
<i>PESTICIDY</i>						
Dichloran	BDDFE <sup>c</sup>	DCV, redukce	BR pufr pH 6,0 – methanol (9:1)	0,5–100	0,5	80
		DPV, redukce	BR pufr pH 6,0 – methanol (9:1)	1–100	2	80
2,4-Dinitrofenol	BDDFE <sup>1</sup>	DPV, redukce	BR pufr pH 4,0	0,4–20	0,1	81
		DPV, redukce	pitná voda – BR pufr pH 4,0 (1:1)	0,4–20	0,1	81
		DPV, redukce	říční voda – BR pufr pH 4,0 (1:1)	0,8–20	0,6	81
		DPV, oxidace	BR pufr pH 10,0	2–20	0,3	81
		DPV, oxidace	pitná voda – BR pufr pH 10,0 (1:1)	0,8–20	0,5	81
		DPV, oxidace	říční voda – BR pufr pH 10,0 (1:1)	2–20	0,3	81
		DPV po SPE, redukce	BR pufr pH 4,0 – methanol (1:1) (SPE z deionizované vody)	0,02–1	0,02	81
		DPV po SPE, redukce	BR pufr pH 4,0 – methanol (1:1) (SPE z pitné vody)	0,02–1	0,02	81
		DPV po SPE, redukce	BR pufr pH 4,0 – methanol (1:1) (SPE z říční vody)	0,2–1	0,2	81
		BDDFE <sup>1</sup>	FIA-ED (WJ), oxidace	0,1 mol l <sup>-1</sup> fosfátový pufr pH 7,0	0,1–100	0,4

Tabulka II  
Pokračování

Sloučenina	Pracovní elektroda	Technika	Prostředí/matrice	Lineární dynamický rozsah [ $\mu\text{mol l}^{-1}$ ]	$L_Q^a$ [ $\mu\text{mol l}^{-1}$ ]	Lit.
Fenolické látky (celkový obsah)	BDDFE <sup>m</sup>	DCV, oxidace	0,1 mol l <sup>-1</sup> KCl – methanol (1:1)	— <sup>n</sup>	— <sup>n</sup>	83
2-Methyl-4,6-dinitrofenol	BDDFE <sup>c</sup>	DCV, oxidace	BR pufr pH 2,0	2–100	1	84
		DPV, oxidace	BR pufr pH 8,0	2–100	0,6	84
		DPV, oxidace	pitná voda – BR pufr pH 8,0 (1:1)	2–100	2	84
		DPV, oxidace	říční voda – BR pufr pH 8,0 (1:1)	2–100	2	84
		DCV, redukce	BR pufr pH 5,0	2–100	0,8	84
		DPV, redukce	BR pufr pH 5,0	2–100	2	84
		DPV, redukce	pitná voda – BR pufr pH 5,0 (1:1)	2–100	1	84
		DPV, redukce	říční voda – BR pufr pH 5,0 (1:1)	2–100	2	84
		2-Nitrofenol	BDDFE <sup>1</sup>	DPV, redukce	BR pufr pH 4,0	0,4–80
DPV, redukce	pitná voda – BR pufr pH 4,0 (1:1)			0,4–200	0,2	81
DPV, redukce	říční voda – BR pufr pH 4,0 (1:1)			0,8–20	0,1	81
DPV po SPE, redukce	BR pufr pH 4,0 – methanol (1:1) (SPE z deionizované vody)			0,02–1	0,02	81
DPV po SPE, redukce	BR pufr pH 4,0 – methanol (1:1) (SPE z pitné vody)			0,02–1	0,02	81
DPV po SPE, redukce	BR pufr pH 4,0 – methanol (1:1) (SPE z říční vody)			0,2–1	0,2	81
BDDFE <sup>1</sup>	FIA-ED (WJ), oxidace			0,1 mol l <sup>-1</sup> fosfátový pufr pH 7,0	0,04–10	0,1
4-Nitrofenol	BDDFE <sup>1</sup>	DPV, redukce	BR pufr pH 6,0	0,8–200	0,1	81
		DPV, redukce	pitná voda – BR pufr pH 6,0 (1:1)	0,8–20	0,1	81
		DPV, redukce	říční voda – BR pufr pH 6,0 (1:1)	0,4–20	0,1	81
		DPV, oxidace	BR pufr pH 11,0	4–80	0,5	81
		DPV, oxidace	pitná voda – BR pufr pH 11,0 (1:1)	4–40	1	81
		DPV, oxidace	říční voda – BR pufr pH 11,0 (1:1)	4–20	1	81
		DPV po SPE, redukce	BR pufr pH 6,0 – methanol (1:1) (SPE z deionizované vody)	0,02–1	0,03	81
		DPV po SPE, redukce	BR pufr pH 6,0 – methanol (1:1) (SPE z pitné vody)	0,02–1	0,04	81
		DPV po SPE, redukce	BR pufr pH 6,0 – methanol (1:1) (SPE z říční vody)	0,2–1	0,2	81
		BDDFE <sup>1</sup>	FIA-ED (WJ), oxidace	0,1 mol l <sup>-1</sup> fosfátový pufr pH 7,0	0,06–10	0,01
	<i>LÉČIVA</i>					
Chloramfenikol	BDDFE <sup>c</sup>	DCV, redukce	BR pufr pH 6,0	2–100	3	85
		DPV, redukce	BR pufr pH 6,0	2–100	3	85



Tabulka II  
Pokračování

Sloučenina	Pracovní elektroda	Technika	Prostředí/matrice	Lineární dynamický rozsah [ $\mu\text{mol l}^{-1}$ ]	$L_Q^a$ [ $\mu\text{mol l}^{-1}$ ]	Lit.
<i>VÝBUŠNINY</i>						
Pikrová kyselina	BDDFE <sup>c</sup>	DCV, oxidace	BR pufr pH 10,0	2–100	0,2	84
		DPV, oxidace	BR pufr pH 10,0	2–100	0,5	84
		DPV, oxidace	pitná voda – BR pufr pH 10,0 (1:1)	2–100	1	84
		DPV, oxidace	říční voda – BR pufr pH 10,0 (1:1)	2–100	1	84
		DCV, redukce	BR pufr pH 3,0	2–100	1	84
		DPV, redukce	BR pufr pH 2,0	2–100	0,5	84
		DPV, redukce	pitná voda – BR pufr pH 10,0 (1:1)	2–100	1	84
		DPV, redukce	říční voda – BR pufr pH 10,0 (1:1)	2–100	2	84

<sup>a</sup> Mez stanovitelnosti, <sup>b</sup> nanokrystalická či <sup>c</sup> mikrokrystalická BDDFE připravená chemickou depozicí par na křemikový substrát za použití mikrovlnného ohřevu (poskytnutá prof. Gregem M. Swainem, Michigan State University, East Lansing, MI, USA), <sup>d</sup> dvousložková směs 2-aminobifenyly a 4-aminobifenyly při měnící se koncentraci 2-aminobifenyly a konstantní koncentraci 4-aminobifenyly (postupně 4, 6, 8 a 10  $\mu\text{mol l}^{-1}$ ), <sup>e</sup> v závislosti na koncentraci 4-aminobifenyly, <sup>f</sup> uvedená hodnota udává mez detekce, <sup>g</sup> dvousložková směs 3-aminobifenyly a 4-aminobifenyly při měnící se koncentraci 3-aminobifenyly a konstantní koncentraci 4-aminobifenyly (postupně 4, 6, 8 a 10  $\mu\text{mol l}^{-1}$ ), <sup>h</sup> dvousložková směs 4-aminobifenyly a 2-aminobifenyly při měnící se koncentraci 4-aminobifenyly a konstantní koncentraci 2-aminobifenyly (postupně 4, 6, 8 a 10  $\mu\text{mol l}^{-1}$ ), <sup>i</sup> v závislosti na koncentraci 2-aminobifenyly, <sup>j</sup> dvousložková směs 4-aminobifenyly a 3-aminobifenyly při měnící se koncentraci 4-aminobifenyly a konstantní koncentraci 3-aminobifenyly (postupně 4, 6, 8 a 10  $\mu\text{mol l}^{-1}$ ), <sup>k</sup> v závislosti na koncentraci 3-aminobifenyly, <sup>l</sup> BDDFE komerčně dostupná od firmy Windsor Scientific (Slough, Velká Británie), <sup>m</sup> BDDFE komerčně dostupná od firmy Adamant Technologies (La Chaux-de-Fonds, Švýcarsko), <sup>n</sup> příslušný parametr není v práci uveden

## Seznam zkratk – pokračování

DPV	diferenční pulsní voltametrie
FIA-ED	průtoková injekční analýza s elektrochemickou detekcí
HPLC-ED	vysokoučinná kapalinová chromatografie s elektrochemickou detekcí
$L_Q$	mez stanovitelnosti
m-AgSAE	rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgámová elektroda
p-AgSAE	leštěná stříbrná pevná amalgámová elektroda
SPE	extrakce tuhou fází
TL	tenkovrstvé uspořádání
TMAB	tetramethylamoniumbromid
WJ	wall-jet uspořádání

Na tomto místě bychom rádi poděkovali za finanční podporu Ministerstvu školství, mládeže a tělovýchovy České republiky (projekty MSM0021620857, LC 06035, RP 14/63 a KONTAKT (AMVIS) projekt ME 10004 (NEMVAD)), Akademii věd České republiky (projekt Otevřená věda II (stáže 2.19 a 2.24)), Grantové agentuře České republiky (projekt P206/10/P087) a Grantové agentuře Univerzity Karlovy v Praze (projekty SVV 261204, 89710/2010/B-Ch/PrF a 92010/2010/B-Ch/PrF).

## LITERATURA

- Barek J., Pecková K., Vyskočil V.: Chem. Listy 103, 889 (2009).
- Vyskočil V., Barek J.: Crit. Rev. Anal. Chem. 39, 173 (2009).
- Yosypchuk B., Barek J.: Crit. Rev. Anal. Chem. 39, 189 (2009).
- Navrátil T., Barek J.: Crit. Rev. Anal. Chem. 39, 131 (2009).
- Pecková K., Musilová J., Barek J.: Crit. Rev. Anal. Chem. 39, 148 (2009).
- Zima J., Švancara I., Barek J., Vytřas K.: Crit. Rev. Anal. Chem. 39, 204 (2009).
- Vyskočil V., Barek J., Jiránek I., Zima J., v knize: *Progress on Drinking Water Research* (Lefebvre M. H., Roux M. M., ed.), kap. 5, str. 171. Nova Science Publishers, New York 2008.
- Yosypchuk B., Navrátil T., Barek J., Pecková K., Fischer J., v knize: *Progress on Drinking Water Research* (Lefebvre M. H., Roux M. M., ed.), kap. 4, str. 143. Nova Science Publishers, New York 2008.
- Navrátil T., Yosypchuk B., Barek J., v knize: *Progress on Drinking Water Research* (Lefebvre M. H., Roux M. M., ed.), kap. 2, str. 55. Nova Science Pub-

- lishers, New York 2008.
10. Pecková K., Musilová J., Barek J., Zima J., v knize: *Progress on Drinking Water Research* (Lefebvre M. H., Roux M. M., ed.), kap. 3, str. 103. Nova Science Publishers, New York 2008.
  11. Zima J., Švancara I., Pecková K., Barek J., v knize: *Progress on Drinking Water Research* (Lefebvre M. H., Roux M. M., ed.), kap. 1, str. 1. Nova Science Publishers, New York 2008.
  12. Barek J., Pecková K., Vyskočil V.: *Curr. Anal. Chem.* **4**, 242 (2008).
  13. Vyskočil V., Barek J.: *Curr. Org. Chem.* **15**, v tisku (2011).
  14. Daňhel A., Barek J.: *Curr. Org. Chem.* **15**, v tisku (2011).
  15. Fischer J., Barek J., Dejmková H.: *Curr. Org. Chem.* **15**, v tisku (2011).
  16. Pecková K., Barek J.: *Curr. Org. Chem.* **15**, v tisku (2011).
  17. Vyskočil V., Labuda J., Barek J.: *Anal. Bioanal. Chem.* **397**, 233 (2010).
  18. Boyd A. S., Seger D., Vannucci S., Langley M., Abraham J. L., King L. E.: *J. Am. Acad. Dermatol.* **43**, 81 (2000).
  19. <http://www.soc.cz/>, staženo 1. září 2010.
  20. <http://veda.gymjs.net/>, staženo 1. září 2010.
  21. <http://www.otevrena-veda.cz/>, staženo 1. září 2010.
  22. Bard A. J., Faulkner L. R.: *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. John Wiley & Sons, 2. vydání, New York 2001.
  23. Wang J.: *Analytical Electrochemistry*. John Wiley & Sons, 3. vydání, Hoboken 2006.
  24. Cvačka J., Swain G. M., Barek J., Zima J.: *Chem. Listy* **96**, 33 (2002).
  25. Pecková K., Mocko V., Opekar F., Swain G. M., Zima J., Barek J.: *Chem. Listy* **100**, 124 (2006).
  26. Musilová J., Barek J., Pecková K.: *Chem. Listy* **103**, 469 (2009).
  27. Maixnerová L., Pecková K., Barek J., Klímová H.: *Chem. Listy* **104**, 191 (2010).
  28. Yosypchuk O., Pecková K., Barek J.: *Chem. Listy* **104**, 186 (2010).
  29. Novotný L., Yosypchuk B.: *Chem. Listy* **94**, 1118 (2000).
  30. Yosypchuk B., Barek J.: *Chem. Listy* **103**, 284 (2009).
  31. Yosypchuk B., Novotný L.: *Electroanalysis* **14**, 1733 (2002).
  32. Yosypchuk B., Novotný L.: *Crit. Rev. Anal. Chem.* **32**, 141 (2002).
  33. Jiránek I., Červený V., Barek J., Rychlovský P.: *Anal. Lett.* **43**, 1387 (2010).
  34. Tuček M., Bencko V., Krýsl S.: *Chem. Listy* **101**, 1038 (2007).
  35. Barek J., Fischer J., Navrátil T., Pecková K., Yosypchuk B., Zima J.: *Electroanalysis* **19**, 2003 (2007).
  36. Barek J., Fischer J., Navrátil T., Pecková K., Yosypchuk B.: *Sensors* **6**, 445 (2006).
  37. Yosypchuk B., Fojta M., Barek J.: *Electroanalysis* **22**, 1967 (2010).
  38. Daňhel A., Yosypchuk B., Vyskočil V., Zima J., Berek J.: *J. Electroanal. Chem.* **651**, v tisku [DOI: 10.1016/j.jelechem.2010.11.010] (2011).
  39. Niaz A., Fischer J., Barek J., Yosypchuk B., Sirajuddin, Bhangar M. I.: *Electroanalysis* **21**, 1786 (2009).
  40. Niaz A., Fischer J., Barek J., Yosypchuk B., Sirajuddin, Bhangar M. I.: *Electroanalysis* **21**, 1719 (2009).
  41. Yosypchuk B., Navrátil T., Lukina A. N., Pecková K., Barek J.: *Chem. Anal. (Warsaw)* **52**, 897 (2007).
  42. Vyskočil V., Navrátil T., Daňhel A., Dědík J., Krejčová Z., Škvorová L., Tvrdíková J., Barek J.: *Electroanalysis* **23**, v tisku [DOI: 10.1002/elan.201000428] (2011).
  43. Nirmala K. A., Gowda D. S. S.: *J. Appl. Crystallogr.* **8**, 693 (1975).
  44. Zakrzewski M. A., Burke E. A. J.: *Mineral. Mag.* **51**, 318 (1987).
  45. Deýlová D., Barek J.: *6<sup>th</sup> International Students Conference "Modern Analytical Chemistry", Prague, 24 - 25 Sept. 2010*, Book of Abstracts (Nesměrák K., ed.), str. 101. Charles University in Prague, Faculty of Science, Prague 2010.
  46. Vyskočil V., Navrátil T., Polášková P., Barek J.: *Electroanalysis* **22**, 2034 (2010).
  47. Daňhel A., Pecková K., Čížek K., Barek J., Zima J., Yosypchuk B., Navrátil T.: *Chem. Listy* **101**, 144 (2007).
  48. Tvrdíková J., Daňhel A., Barek J.: *Cena Merck 2010, České Budějovice, 2. února 2010*, Sborník příspěvků – *Chem. Listy* **104** (Barek J., Grubhoffer L., Ventura K., Vyskočil V., ed.), str. s57. Česká společnost chemická, Praha 2010.
  49. Vyskočil V., Polášková P., Bologa P., Barek J., v knize: *Sensing in Electroanalysis* (Vytřas K., Kalcher K., Švancara I., ed.), sv. 4, str. 91. University of Pardubice, Pardubice 2009.
  50. Deýlová D., Barek J., Yosypchuk B.: *XXIX. Moderní elektrochemické metody, Jetřichovice, 25. – 29. května 2009*, Sborník přednášek (Barek J., Navrátil T., ed.), str. 19. BEST Servis, Ústí nad Labem 2009. [http://www.bestservis.eu/upload/file/Sbornik\\_metody09.pdf](http://www.bestservis.eu/upload/file/Sbornik_metody09.pdf), staženo 1. září 2010.
  51. Chládková B.: *Bakalářská práce*. Univerzita Karlova v Praze, Praha 2010.
  52. Vyskočil V., Horáková E., Šmídová D., Barek J.: *Electrochemistry 2010: From Microscopic Understanding to Global Impact, Bochum, 13 – 15 Sept. 2010*, Book of Abstracts, str. 210. Gesellschaft Deutscher Chemiker, Frankfurt am Main 2010.
  53. Vaňková L., Maixnerová L., Čížek K., Fischer J., Barek J., Navrátil T., Yosypchuk B.: *Chemické Listy* **100**, 1105 (2006).
  54. Jiránek I., Pecková K., Králová Z., Moreira J. C., Berek J.: *Electrochim. Acta* **54**, 1939 (2009).
  55. Burdová V., Vyskočil V., Barek J.: *Cena Merck 2010, České Budějovice, 2. února 2010*, Sborník příspěvků – *Chem. Listy* **104** (Barek J., Grubhoffer L., Ventura K.,

- Vyskočil V., ed.), str. s6. Česká společnost chemická, Praha 2010.
56. Pecková K., Barek J., Navrátil T., Yosypchuk B., Zima J.: *Anal. Lett.* 42, 2339 (2009).
  57. Karásek J.: *Bakalářská práce*. Univerzita Karlova v Praze, Praha 2008.
  58. Novotný V., Barek J.: *Chem. Listy* 103, 217 (2009).
  59. Cabalková D., Barek J., Fischer J., Navrátil T., Pecková K., Yosypchuk B.: *Chem. Listy* 103, 236 (2009).
  60. Fischer J., Vaňourková L., Daňhel A., Vyskočil V., Čížek K., Barek J., Pecková K., Yosypchuk B., Navrátil T.: *Int. J. Electrochem. Sci.* 2, 226 (2007).
  61. Daňhel A., Shiu K. K., Yosypchuk B., Barek J., Pecková K., Vyskočil V.: *Electroanalysis* 21, 303 (2009).
  62. Fischer J., Barek J., Yosypchuk B., Navrátil T.: *Electroanalysis* 18, 127 (2006).
  63. Pecková K., Navrátil T., Yosypchuk B., Moreira J. C., Leandro K. C., Barek J.: *Electroanalysis* 21, 1750 (2009).
  64. Pecková K., Vrzalová L., Bencko V., Barek J.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 74, 1697 (2009).
  65. Radová J.: *Bakalářská práce*. Univerzita Karlova v Praze, Praha 2008.
  66. Vyskočil V., Daňhel A., Fischer J., Kotasová M., Málek A., Radová J., Pecková K., Barek J.: *ACP 2010: Súčasný stav a perspektívy analytickej chémie v praxi, Bratislava, 9. – 12. května 2010*, Zborník príspevkov – *Chem. Listy* 104, str. s521. Česká společnost chemická, Praha 2010.
  67. Radová J.: *Diplomová práce*. Univerzita Karlova v Praze, Praha 2010.
  68. Fischer J., Niaz A., Barek J., Yosypchuk B., Sirajuddin, Bhangar M. I.: *XXIX. Moderní elektrochemické metody, Jetřichovice, 25. – 29. května 2009*, Sborník přednášek (Barek J., Navrátil T., ed.), str. 22. BEST Servis, Ústí nad Labem 2009. [http://www.bestservis.eu/upload/file/Sbornik\\_metody09.pdf](http://www.bestservis.eu/upload/file/Sbornik_metody09.pdf), staženo 1. září 2010.
  69. Qureshi M. S., Fischer J., Barek J., Sirajuddin, Bhangar M. I.: *Electroanalysis* 22, 1957 (2010).
  70. Granger M. C., Xu J. S., Strojek J. W., Swain G. M.: *Anal. Chim. Acta* 397, 145 (1999).
  71. Granger M. C., Witek M., Xu J. S., Wang J., Hupert M., Hanks A., Koppang M. D., Butler J. E., Lucazeau G., Mermoux M., Strojek J. W., Swain G. M.: *Anal. Chem.* 72, 3793 (2000).
  72. Fujishima A., Einaga Y., Rao T. N., Tryk D. A.: *Diamond Electrochemistry*. Elsevier, Amsterdam 2005.
  73. Barek J., Jandová K., Pecková K., Zima J.: *Talanta* 74, 421 (2007).
  74. Maixnerová L.: *Diplomová práce*. Univerzita Karlova v Praze, Praha 2010.
  75. Pecková K., Jandová K., Maixnerová L., Swain G. M., Barek J.: *Electroanalysis* 21, 316 (2009).
  76. Čížek K., Barek J., Fischer J., Pecková K., Zima J.: *Electroanalysis* 19, 1295 (2007).
  77. Čížek K.: *Disertační práce*. Univerzita Karlova v Praze, Praha 2006.
  78. Yosypchuk O.: *Diplomová práce*. Univerzita Karlova v Praze, Praha 2010.
  79. Vyskočil V., Polášková P., Labuda J., Pecková K., Zima J., Barek J.: *Second Regional Symposium on Electrochemistry, Belgrade, 6 – 10 June 2010*, Proceedings, str. 185. Serbian Chemical Society, Belgrade 2010.
  80. Jílková L.: *Bakalářská práce*. Univerzita Karlova v Praze, Praha 2008.
  81. Musilová J., Barek J., Pecková K.: *Electroanalysis* 23, odesláno (2011).
  82. Musilová J., Barek J., Pecková K.: *62. sjezd asociací českých a slovenských chemických společností, Pardubice, 28. – 30. června 2010*, Sborník – *Chem. Listy* 104, str. 458. Česká společnost chemická, Praha 2010.
  83. Dejmková H., Scampicchio M., Zima J., Barek J., Mannino S.: *Electroanalysis* 21, 1014 (2009).
  84. Urbanová M.: *Diplomová práce*. Univerzita Karlova v Praze, Praha 2009.
  85. Ječmínková J.: *Bakalářská práce*. Univerzita Karlova v Praze, Praha 2009.
- V. Vyskočil, A. Daňhel, J. Fischer, V. Novotný, D. Deřlová, J. Musilová-Karaová, L. Maixnerová, K. Pecková, and J. Barek** (*Charles University in Prague, Faculty of Science, Department of Analytical Chemistry, UNESCO Laboratory of Environmental Electrochemistry, Prague*): **The Beauty and Usefulness of Novel Electrode Materials**
- Different types of silver amalgam electrodes and boron doped diamond film electrodes have been introduced as modern and promising replacements for traditional mercury and glassy carbon electrodes. Advantages and possibilities of these novel electrode materials were highlighted and demonstrated at a number of sensitive voltammetric and amperometric (HPLC, flow injection analysis) methods developed in our UNESCO Laboratory of Environmental Electrochemistry in the last five years. The determined analytes were hazardous organic chemical carcinogens and genotoxic environmental pollutants, pesticides, antitumor, antibiotic and antiviral drugs, and explosives containing electrochemically reducible (such as nitro, nitroso, azido, and oxo groups) and/or oxidizable groups (such as amino and hydroxy groups).

---

## LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

---

### STANOVENÍ ULTRASTOPOVÝCH KONCENTRACÍ SELENU A ARSENU V PITNÝCH VODÁCH METODOU ECHG-QFAAS

JAKUB HRANIČEK\*, VÁCLAV ČERVENÝ  
a PETR RYCHLOVSKÝ

*Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra analytické chemie, Albertov 2030, 128 43 Praha 2  
hranicek@natur.cuni.cz*

Došlo 24.8.10, přijato 20.10.10.

---

**Klíčová slova:** atomová absorpční spektrometrie, elektrochemické generování, těkavé hydridy, miniaturizace, elektrochemická průtoková generační cela, atomizace, arsen, selen

---

#### Úvod

Elektrochemické generování těkavých sloučenin (ECHG) je alternativní metodou k dnes běžně používanému chemickému generování (CHG)<sup>1</sup>. Tato metoda překonává řadu komplikací spojených s chemickým generováním. Pro redukci analytu na těkavou sloučeninu (hydrid) je použit místo chemického redukčního činidla elektrický proud v prostředí pouze velmi čistých minerálních kyselin<sup>2</sup>. Tím odpadá možnost kontaminace roztoku analytu z redukčního činidla (popř. kontaminace interferujícími ionty), což ve svém důsledku vede k dosažení nižších hodnot mezi detekce a stanovitelnosti. Při elektrochemickém generování těkavých sloučenin je možné přímo generovat těkavé sloučeniny analytu obvykle i z vyšších oxidačních stavů, oproti chemickému generování, kde je nutno předřadit preredukční krok pro redukci vyšších oxidačních stavů na nižší<sup>3</sup>. Úspora relativně drahého redukčního činidla patří též mezi nesporné výhody elektrochemického způsobu generování. Elektrochemické generování může být, podobně jako chemické generování, kombinováno s různými analytickými detekčními technikami. Jednou z nejčastěji používaných je jistě atomová absorpční spektrometrie s křemenným atomizátorem (QFAAS)<sup>4</sup>.

Nejdůležitější součástí experimentální aparatury je elektrolytická (elektrochemická) průtoková cela pro generování těkavých sloučenin. V této elektrolytické cele dochází účinkem procházejícího proudu k redukci analytu a tvorbě těkavé sloučeniny analytu. Konstrukčně se nejčastěji jedná o klasickou tenkovrstvou průtokovou generační celu<sup>5,6</sup>, která dnes existuje v celé řadě modifikací<sup>7–9</sup>. Tyto klasické cely se skládají obvykle ze dvou částí, oddělených od sebe iontově výměnnou membránou<sup>10–13</sup>, skleněnou fritou<sup>14</sup> nebo keramickou porézní trubicí<sup>15</sup>. Oba prostory jsou vyrobené nejčastěji z plexiskla (polymethylmetakrylát) nebo teflonu. V obou prostorech jsou vloženy elektrody zhotovené z nejrůznějších materiálů (nejčastěji olovo, uhlík, platina, slitina kovů)<sup>16</sup>. Iontové výměnná membrána není nezbytnou podmínkou. Existují i průtokové elektrolytické cely bez iontové výměnné membrány<sup>17</sup>. Základním požadavkem, který by elektrolytická cela vhodná pro analytické aplikace měla splňovat, je miniaturní vnitřní objem katodového prostoru. Tento objem je obecně závislý na konstrukčním typu elektrolytické cely a na formě vložené elektrody. Na druhé straně by při miniaturizaci katodového prostoru (případně celé elektrolytické cely) nemělo dojít ke snížení účinnosti generování příslušné těkavé sloučeniny. Oba dva požadavky jsou však obvykle protichůdné a musí být proto nalezen vhodný kompromis.

Cílem této práce bylo vypracování jednoduché a vysoce citlivé metody stanovení arсенu a selenu v pitných vodách metodou elektrochemického generování těkavých sloučenin ve spojení s atomovou absorpční spektrometrií s křemenným atomizátorem. Oba dva analyty jsou známy svými toxickými, arsen též karcinogenními účinky. Stanovení obou analytů v pitných vodách technikou elektrochemického generování není obtížné díky poměrně jednoduché matici a na toto téma již některé práce vznikly<sup>18</sup>.

V předkládané práci byly pro elektrochemické generování hydridů využity konstrukčně nové typy elektrolytických cel charakterizované minimálním vnitřním objemem katodové části a maximální účinností přeměny stanovovaného analytu na těkavou formu.

#### Experimentální část

##### Použité typy průtokových generačních cel

Pro elektrochemické generování těkavých hydridů Se a As byly v této práci navrženy a zkonstruovány elektrolytické cely, které lze obecně rozdělit do tří základních sku-

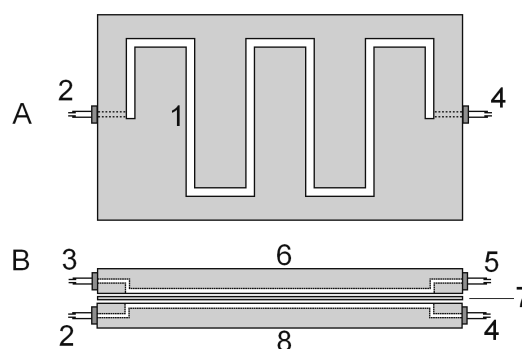
---

\* Jakub Hraníček získal s touto prací 1. místo v soutěži Cena Shimadzu 2009 pořádané v rámci 61. Zjazdu chemikov, Vysoké Tatry, Slovensko

pin. První skupinu tvoří elektrolytické cely, které neobsahují naftionovou membránu (bezmembránové cely). Do druhé skupiny patří elektrolytické cely, které jsou svojí konstrukcí podobné klasické tenkovrstvé elektrolytické cele, ale na rozdíl od ní mají odlišné uspořádání elektrodo- vých prostor (tenkovrstvé cely). Poslední skupinu elektrolytických cel tvoří cely mající katodový prostor umístěn uvnitř anodového prostoru (tubulární cely). Celkově bylo zhotoveno 15 konkrétních typů elektrolytických cel. Každá ze zkonstruovaných elektrolytických cel patří do jednoho z výše uvedených konstrukčních typu. V rámci jednoho konstrukčního typu se jednotlivé konstrukce elektrolytických cel liší navzájem pouze velikostí nebo objemem katodového prostoru, popřípadě vzájemným uspořádáním obou elektrodo- vých prostorů.

Elektrolytické bezmembránové cely, popsáné již dříve<sup>17</sup>, jsou zhotovené z jediného bloku plexiskla, v němž jsou zhotoveny otvory pro katodový a anodový prostor, včetně přívodních a odvodních kanálků a otvory pro uchycení elektrod. Vzájemná poloha elektrodo- vých prostor a jejich tvar závisí na konkrétním typu elektrolytické cely. Některé elektrolytické cely mají elektrodo- vý prostor ve tvaru písmene V a pouze jeden kanálek pro přívod elektrolytu, kterým je zaváděn analyt. Elektrolyt je společný pro oba elektrodo- vé prostory a u těchto konstrukčních typů je nejprve zaváděn do katodového prostoru, skrze který částečně protéká i do anodového prostoru, protože oba elektrodo- vé prostory jsou vzájemně propojeny. Jiné typy elektrolytických bezmembránových cel mají elektrodo- vé prostory uspořádány do tvaru písmene U. Oba elektrodo- vé prostory jsou kolmo propojeny kanálkem a každý z obou elektrodo- vých prostor má svůj vlastní přívod a odvod elektrolytu a produktů. Anodovým prostorem proudí pouze čistý elektrolyt a katodovým prostorem pak elektrolyt s analytem. Výhodou tohoto uspořádání je rychlejší vymývání analytu po předchozím měřicím cyklu. U bezmembránových elektrolytických cel je nutné řídit průtokovou rychlost elektrolytu a plyných produktů z anodové části pro dosažení optimálního proudění elektrolytu katodovým prostorem.

Elektrolytické tenkovrstvé cely využití v této práci se skládají z katodové a anodové části, které jsou vzájemně odděleny iontově výměnnou naftionovou membránou ve tvaru fólie, a spojeny pomocí šroubů nebo svěrek. Navzájem proti sobě jsou v obou oddělených částech zhotoveny elektrodo- vé prostory. Anodová část je zhotovena z plexiskla nebo teflonu a obsahuje elektrodu ve formě drátu vloženou do anodového prostoru. Katodová část je zhotovena buď z plexiskla nebo přímo z elektrodo- vého materiálu – olova. V případě použití plexiskla je Pb katoda ve formě tenkého drátu vložena do katodového prostoru ve tvaru třech paralelních kanálků<sup>20</sup>. Tento typ elektrolytické cely se vyznačuje velkým objemem katodového prostoru. V případě použití olova jako materiálu katodové části je katodový prostor zhotoven ve formě tenkého a dlouhého žlábků několikrát zalomeného. V tomto případě katodový povrch tvoří tři navzájem kolmé stěny zhotoveného žlábků. Výhodou této konstrukce (obr. 1, dále v textu označo-

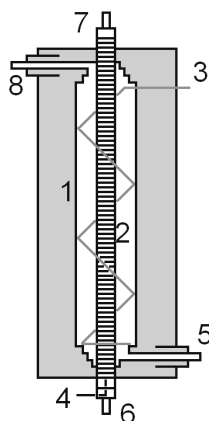


Obr. 1. Žlábková elektrolytická cely; A: horní pohled, katodový prostor, B: celkový boční pohled; 1 – olověný žlábek, 2 – vstup do katodového prostoru, 3 – vstup do anodového prostoru, 4 – výstup z katodového prostoru, 5 – výstup z anodového prostoru, 6 – katodová část, 7 – iontově výměnná membrána, 8 – anodová část

vána jako žlábková elektrolytická cely) je velký povrch katody při zachování malého objemu katodového prostoru. Katolyt i anolyt jsou samostatně přiváděny pomocí peristaltického čerpadla do příslušných elektrodo- vých částí, které mají též samostatné výstupy. Do této skupiny elektrolytických cel patří i klasická tenkovrstvá cely s iontově výměnnou membránou popsáná již dříve<sup>8</sup>. Tato cely byla použita pro srovnání parametrů s nově připravenými elektrolytickými celami.

Společnou vlastností tubulárních elektrolytických cel je koncentrické umístění katodové a anodové části. Obě části jsou od sebe odděleny iontově výměnnou membránou ve formě trubice. V této práci bylo použito několik typů tubulárních elektrolytických cel s katodovým prostorem uvnitř anodového prostoru. Obecné schéma používaných tubulárních cel je znázorněno na obr. 2. Katodový prostor prochází napříč celou konstrukcí a obsahuje elektrodu ve formě miniaturních olověných granulí, které jsou k sobě natěsnány tak, aby byly vodivě spojeny. Spodní část granulí je vodivě spojena s olověným kontaktem, který prochází spodním uzávěrem naftionové trubice. Horní část granulí je upevněna spojkou na konci naftionové trubice. Anolyt protéká válcovým anodovým prostorem, do něhož je vložena platinová anoda obklopující naftionovou trubici z různých stran. Jednotlivé konstrukce tubulární cely se od sebe lišily způsobem upevnění elektrodo- vých prostor. Celá tubulární cely může být tvořena jediným blokem plexiskla. V jiném případě bylo plexisklo použito pouze jako zpevňující materiál pro fixaci anodového a katodového prostoru a platinových elektrod. Dva plexisklové bloky, obsahující otvory pro průchod naftionové trubice, elektrod a anolytu, byly k sobě spojeny pomocí mosazných šroubů.

Výhodou tubulárních uspořádání je možnost dosáhnout miniaturizovaného objemu katodového prostoru a rovnoměrného proudění katolytu tímto prostorem. Mrtvý objem katodového prostoru (objem volného prostoru po



Obr. 2. Tubulární elektrolytická cely – obecné schéma; 1 – anodový prostor, 2 – katodový prostor, 3 – Pt anoda, 4 – Pb katoda, 5 – přívod anolytu do elektrodové cely, 6 – přívod katolytu do elektrolytické cely, 7 – odvod z katodového prostoru k separátoru, 8 – odvod z anodového prostoru do odpadu

vložení elektrody) se u bezmembránových cel podařilo snížit na hodnotu 214 mm<sup>3</sup>, u tenkovrstvých cel na 225 mm<sup>3</sup> a u tubulárních cel na hodnotu 42 mm<sup>3</sup>. Ve srovnání s klasickou tenkovrstvou průtokovou celou (654 mm<sup>3</sup>) se jedná ve všech případech o významné snížení.

#### Materiál elektrod

U bezmembránových elektrolytických cel byla katoda vyrobená z olověného drátu o průměru 1 mm a čistotě 99,999 % (Aldrich, USA). U tenkovrstvých elektrolytic-

kých cel byla katoda zhotovena z olověného bloku čistoty 99,997 % a u tubulárních elektrolytických cel z olova ve formě drátu o průměru 1 mm nebo jemných pilinek či granulí čistoty 99,95 % (Aldrich, USA). Anoda používaná u všech typů elektrolytických cel byla vyrobena z platinového drátu o průměru 1 mm a čistotě 99,99 % (Goodfellow, Velká Británie).

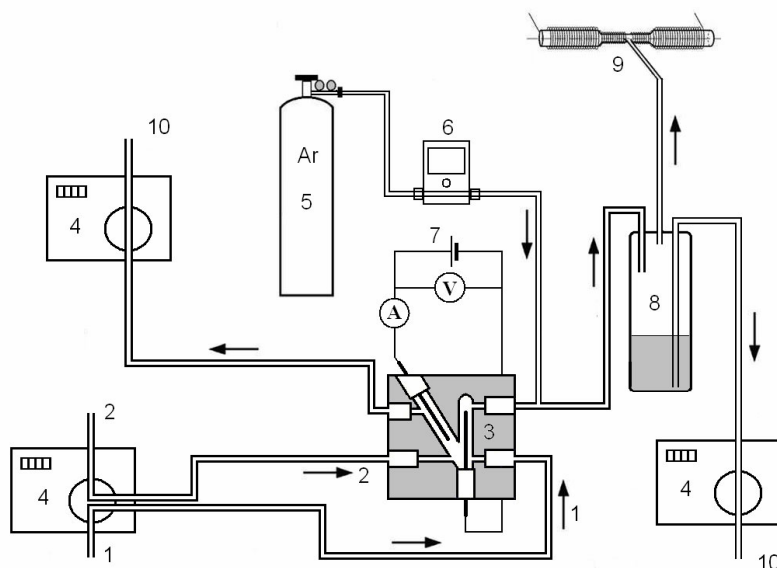
Pro oddělení katodové a anodové části byla využita iontově výměnná membrána Nafion 117 (Aldrich, USA). U tubulárních elektrolytických cel byla použita trubička Nafion TT-110 (Perma Pure, USA).

#### Chemikálie

Pracovní roztoky Se a As o požadované koncentraci byly připravovány ředěním standardního roztoku Se o koncentraci  $1,000 \pm 0,002 \text{ g l}^{-1}$  (Analytika, Praha) a As o koncentraci  $1,000 \pm 0,002 \text{ g l}^{-1}$  (Analytika, Praha). Pro ředění všech roztoků byla používána deionizovaná voda připravená zařízením Milli Q<sub>PLUS</sub> firmy Millipore, USA. Kyseliny H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (96%) a HCl (37%) byly čistoty Suprapure firmy Merck, Německo. Pro kontrolu správnosti metody byl použit referenční materiál: NIST SRM 1643e (Trace Elements in Water). Jako nosný plyn byl použit argon o čistotě 99,998 %. Při chemickém generování byl použit 1% NaBH<sub>4</sub> stabilizovaný 0,4% NaOH připravený z pevného NaBH<sub>4</sub> (Merck).

#### Přístrojové vybavení

Při optimalizaci pracovních parametrů elektrolytických cel a zjišťování základních charakteristik stanovení Se byl použit atomový absorpční spektrometr Solaar 939



Obr. 3. Schéma aparatury pro kontinuální elektrochemické generování (zde s celou BM); 1 – přívod katolytu, 2 – přívod anolytu, 3 – elektrolytická cely, 4 – peristaltická pumpa, 5 – nosný plyn, 6 – elektronický průtokoměr, 7 – zdroj elektrického proudu, 8 – separátor fázi, 9 – atomizátor, 10 – odpad

s deuteriovou korekcí pozadí (Unicam, Velká Británie) s As a Se výbojkou s vysokou září s vlastním napájecím zdrojem (Se: 18 mA,  $\lambda_{Se} = 196,0$  nm; As: 15 mA,  $\lambda_{As} = 193,7$  nm, šířka spektrálního intervalu 1,0 nm) (Photron, Australia). Pro čerpání elektrolytů bylo použito programovatelné osmikanálové peristaltické čerpadlo MasterFlex<sup>®</sup> L/S (Cole-Parmer USA). Jako zdroj konstantního proudu byl použit laboratorní lineární zdroj LPS 303 (American Reliance, Taiwan). Jako atomizátor byl použit externě vyhřívaný (RMI, ČR) křemenný atomizátor (délka atomizačního ramene 170 mm, vnitřní průměr 12 mm).

### Experimentální zapojení

Schéma zapojení aparatury pro kontinuální elektrochemické generování hydridů ve spojení s AAS detekcí je uvedeno na obr. 3. Na tomto obrázku je použita bezmembránová elektrolytická cela. Analyt je zaváděn do elektrolytické cely v proudy katolytu pomocí peristaltického čerpadla. Plynné i kapalné produkty včetně původního elektrolytu jsou rychle odváděny samostatnými výstupy z elektrodových prostor. Výstup z anodového prostoru je veden do odpadu pomocí peristaltického čerpadla. Výstup z katodového prostoru je veden do miniaturního skleněného separátoru fází vlastní konstrukce (objem 5 ml), kde dochází k oddělení těkavé sloučeniny analytu od kapalné matrice. Nosný plyn, který obvykle bývá zaváděn do proudu katolytu před vstupem do elektrolytické cely, napomáhá uvolňování vzniklé těkavé sloučeniny analytu a též urychluje její transport přes separátor fází do odporově vyhřívaného křemenného atomizátoru (teplota atomizátoru 950 °C), který je umístěn v optické ose atomového absorpčního spektrometru.

### Pracovní postup

Pro vypracování metody stanovení ultrastopových koncentrací selenu a arsenu v pitných vodách bylo nejprve nutné navrhnout a zkonstruovat vhodné elektrolytické cely, které splňují požadavek minimálního vnitřního objemu katodového prostoru (rychlost odezvy celého systému při záměně vzorku) a zároveň požadavek na maximální účinnost generování hydridu (maximální hodnota citlivosti). U jednotlivých konstrukčních typů elektrolytických cel byla nejprve provedena optimalizace relevantních pracovních parametrů. Jako modelový analyt byl pro tyto optimalizační experimenty použit selen. Při optimálních hodnotách experimentálních parametrů byly změřeny základní charakteristiky stanovení selenu. Optimalizační experimenty včetně změření základních charakteristik byly opakovány i pro arsen, a to opět u všech konstrukčních typů elektrolytických cel. Na základně provedených experimentů byla z každého konstrukčního typu vybrána jedna konkrétní elektrolytická cela, s níž bylo dosaženo za optimálních pracovních parametrů v rámci daného konstrukčního typu nejvyšší citlivosti. U vybraných elektrolytických cel vykazujících vysokou citlivost stanovení selenu byla také porovnávána dosažená citlivost s dosaženou citlivostí sta-

novení selenu metodou chemického generování. Na základě všech provedených experimentů byly pro účely této práce vybrány dvě konstrukce elektrolytických cel, které se vyznačovaly miniaturním vnitřním objemem katodového prostoru a zároveň vysokou citlivostí stanovení. Správnost metody byla ověřena analýzou referenčního materiálu. Na závěr byla provedena analýza praktických vzorků. Všechny experimenty byly prováděny v režimu kontinuální průtokové analýzy.

### Příprava vzorku a analýza referenčního materiálu

Pro přípravu vzorku byla požitá 10,00 ml odměrná baňka, do které bylo pipetováno 8 ml analyzovaného vzorku a přidáno 0,8 ml koncentrované HCl (37%). Odměrná baňka pak byla doplněna po rysku vzorkem. Při dodržení uvedeného postupu lze výslednou koncentraci analytu získat vynásobením koncentrace vypočtené z hodnoty absorbance přes kalibrační závislost faktorem 1,0905.

## Výsledky a diskuse

### Optimalizace pracovních podmínek

Nejdříve byly u všech typů elektrolytických cel, použitelných pro stanovení, optimalizovány pracovní parametry, které mohou výrazným způsobem ovlivnit dosaženou citlivost stanovení. Šlo především o typ elektrolytu(ů) protékajícího elektrolytickou celou, jeho koncentraci a průtokovou rychlost; dále pak o průtokovou rychlost nosného plynu, použitý generační proud a odtahovou rychlost nezreagovaného elektrolytu z anodové části (pouze v případě bezmembránové elektrolytické cely). U všech experimentů byl vyhodnocován signál získaný pro koncentraci Se 60 ng ml<sup>-1</sup>.

U membránových elektrolytických cel (tenkovrstvé, tubulární) byl analyt zaváděn v prostředí katolytu, kterým byla shodně u všech typů cel HCl o koncentraci 1,0 mol l<sup>-1</sup>. Závislost získaného analytického signálu na koncentraci elektrolytu měla obdobný průběh u všech cel, s výrazným maximem kolem hodnoty 1,0 mol l<sup>-1</sup>. Kromě HCl byla zkoušena také H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> o různých koncentracích. V těchto případech byla hodnota získaného signálu vždy nižší než hodnota signálu dosažená s HCl jako katolytem. Jako anolyt byla používána u membránových cel H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> o koncentraci 2,0 mol l<sup>-1</sup>. Optimalizace koncentrace anolytu nebyla provedena na základě dřívějších zkušeností, že její vliv na hodnotu získaného signálu je zanedbatelný, protože je od analytu oddělena pomocí nafiionové membrány. U bezmembránových elektrolytických cel byl používán stejný elektrolyt jak pro katodový, tak i pro anodový prostor. V tomto případě byla jako vhodný elektrolyt vybrána H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> o koncentraci 1,0 mol l<sup>-1</sup>. Při použití HCl jako elektrolytu byl v tomto případě pro roztok Se (60 ng ml<sup>-1</sup>) pozorován nulový signál. Důvodem je s největší pravděpodobností plynný chlor vznikající na anodě a částečně pronikající do katodového prostoru

Tabulka I

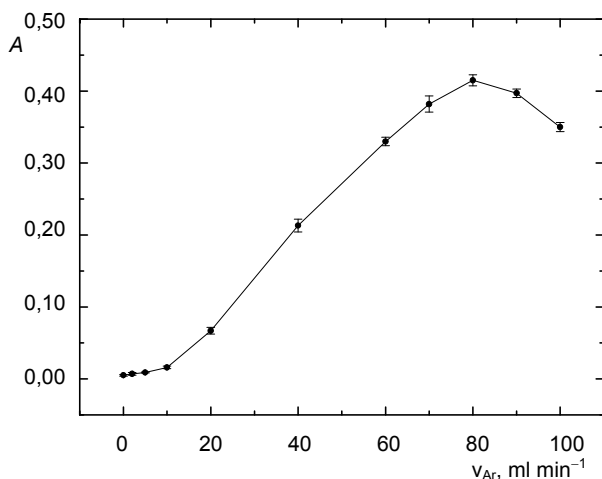
Optimální pracovní podmínky pro stanovení Se a As technikou hydridové AAS při použití jednotlivých konstrukčních typů elektrolytických cel

Elektrolytické cely Analyt	BM <sup>a</sup>		TV <sup>b</sup>		TB <sup>c</sup>	
	Se	As	Se	As	Se	As
Generační proud, A	0,4	0,5	0,2	0,3	1,0	0,7
Průtoková rychlost nosného plynu, ml min <sup>-1</sup>	10	15	80	80	60	60
Průtoková rychlost elektrolytu, ml min <sup>-1</sup>	2,5	2,5	4,5	4,0	3,5	3,5
Koncentrace elektrolytu, mol dm <sup>-3</sup>	1 mol dm <sup>-3</sup> HCl		1 – 2 mol dm <sup>-3</sup> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>			
Odtahová průtoková rychlost, ml min <sup>-1</sup>	5,3	5,6	---	---	---	---

<sup>a</sup> BM – bezmembránová cela, <sup>b</sup> TV – tenkovrstvá cela, <sup>c</sup> TB – tubulární cela

a interferující se vznikajícím hydridem.

Nosný plyn (argon) byl u většiny elektrolytických cel zaváděn do proudu katolytu před vstupem do elektrolytické cely, což urychlovalo především transport těkavého hydridu analytu do atomizátoru. Toto uspořádání však nebylo možné použít u bezmembránových elektrolytických cel, kdy průchod nosného plynu malými prostory elektrolytické cely způsoboval přerušování elektrolyzy, což se výrazně projevovalo na zhoršení stability signálu. Nosný plyn byl proto v tomto případě zaváděn těsně za výstup z katodové části elektrolytické cely. Optimální hodnota průtokové rychlosti nosného plynu se shodně pro všechny bezmembránové cely pohybovala kolem hodnoty 10 ml min<sup>-1</sup>. V blízkosti této hodnoty se nacházelo výrazné maximum analytického signálu při současném dosažení jeho relativně vysoké časové stability. U tenkovrstvých



Obr. 4. Závislost absorpce na průtokové rychlosti nosného plynu pro cely typu TV; generační proud 0,2 A, koncentrace katolytu 1 mol dm<sup>-3</sup>, průtoková rychlost elektrolytu 2,5 ml min<sup>-1</sup>, dávkovaná koncentrace selenu 60 ng ml<sup>-1</sup>

průtokových cel se optimální průtok nosného plynu přesunul do rozmezí hodnot 40–60 ml min<sup>-1</sup> (obr. 4) a u tubulárních elektrolytických cel až k hodnotám 80 ml min<sup>-1</sup>. V obou případech se jednalo o maximum poměrně nevýrazné (změna hodnoty získaného signálu byla malá v poměrně velkém rozsahu průtokových rychlostí).

Závislost získaného analytického signálu na velikosti průtokové rychlosti katolytu je monotónně stoupající u všech elektrolytických cel. Zvyšování získaného signálu souvisí s nárůstem látkového množství transportovaného do elektrolytické cely za konstantní časovou jednotku. V tomto případě byla výsledná průtoková rychlost kompromisně zvolena s ohledem na spotřebu vzorku, dosaženou citlivost a životnost čerpacího systému. Experimentálně bylo zjištěno, že pro každou elektrolytickou celu existuje jistá minimální hodnota průtokové rychlosti, kterou je nutné dodržet. V opačném případě byl pozorován značně nestabilní analytický signál s velkými fluktuacemi, způsobený přerušováním elektrodoých reakcí nedostatečným transportem elektrolytů do elektrodoých prostor cely.

Dalším optimalizovaným pracovním parametrem byl vložený generační proud. Nejčastěji se jedná o závislost charakterizovanou polohou výrazného maxima. Při velmi nízkých hodnotách generačního proudu, obvykle pod 0,05 A, ke vzniku těkavé sloučeniny prakticky nedochází. Při vyšších hodnotách dochází ke strmému nárůstu signálu až k dosažení maximální hodnoty. Toto maximum se pohybuje v rozmezí 0,2–1,0 A v závislosti na konstrukčním typu elektrolytické cely. Po dosažení maxima dochází opět k pozvolnému poklesu signálu.

Při použití bezmembránových elektrolytických cel bylo nutné nejprve ustavit hydrostatickou rovnováhu mezi přiváděným a odváděným elektrolytem a plynnými produkty elektrodoých reakcí. Proto bylo nutné použít další peristaltické čerpadlo, kterým byla řízena rychlost výstupu směsi nezreagovaného elektrolytu a plynných produktů z anodového prostoru. Optimální odtahová rychlost z anodové části se pohybovala kolem hodnoty 5,3 ml min<sup>-1</sup>. Nejedná se o průtokovou rychlost samotného elektrolytu, ale jde o průtokovou rychlost směsi kapalných a plynných



produktů, proto je tato vyšší než průtoková rychlost přírodní.

Optimální hodnoty pracovních parametrů (zahrnující hodnotu vloženého generačního proudu, průtokovou rychlost nosného plynu, průtokovou rychlost elektrolytu, koncentraci elektrolytu a odtahovou rychlost) pro vybrané zástupce jednotlivých skupin elektrolytických cel jsou uvedeny v tabulce I (modelovým prvkem byl selen o koncentraci 60 ng ml<sup>-1</sup>). Velmi podobné závislosti byly získány i při optimalizačních experimentech, ve kterých byl jako modelový prvek použit arsen o koncentraci 10 ng ml<sup>-1</sup>. Tyto optimalizační experimenty se týkaly pouze třech vybraných elektrolytických cel, zástupců z každého konstrukčního typu. Souhrn optimálních hodnot pracovních parametrů při použití arsenu jako analytu jsou opět uvedeny v tabulce I. Z této tabulky je patrné, že optimální hodnoty jsou velmi podobné nebo i stejné, tedy nezávislé na modelovém analytu. Tyto optimální pracovní podmínky tedy souvisejí s konstrukcí elektrolytické cely.

Základní charakteristiky stanovení selenu a arsenu technikou HGAAS s elektrochemickým generováním

Při optimálních hodnotách pracovních parametrů pro jednotlivé elektrolytické cely byly proměřeny kalibrační závislosti pro stanovení Se a As technikou HGAAS s elektrochemickým generováním v rozsahu koncentrací 0,5 až 20 ng ml<sup>-1</sup> a 5 až 250 ng ml<sup>-1</sup> pro Se a 0,05 až 1,0 ng ml<sup>-1</sup> a 0,5 až 100 ng ml<sup>-1</sup> pro As. Z kalibračních závislostí a dalších měření byly zjištěny základní charakteristiky stanovení Se a As s využitím jednotlivých konstrukčních typů elektrolytických cel. Mezi základní charakteristiky patří především dosažená mez detekce a stanovitelnosti, citlivost stanovení a opakovatelnost. Hodnoty základních charakteristik stanovení Se a As pomocí jednotlivých konstrukčních typů elektrolytických cel jsou uvedeny v tabulce II. V této tabulce jsou pro porovnání současně uvedeny hodnoty základních charakteristik stanovení Se

a As metodou chemického generování hydridů.

Nejnižší meze detekce a stanovitelnosti pro oba analyty byly dosaženy při použití žlábkové elektrolytické cely. Stanovení arsenu vykazuje obecně vyšší citlivost než stanovení selenu, pro všechny konstrukční typy elektrolytických cel. Dosažená horší opakovatelnost u tubulární elektrolytické cely pravděpodobně souvisí s pomalejší odezvou celého systému (především ve fázi vymývání analytu z cely a poklesu signálu).

Porovnání dosažené citlivosti stanovení selenu metodou elektrochemického generování

Dosažená citlivost stanovení selenu metodou elektrochemického generování hydridů s využitím jednotlivých elektrolytických cel byla v této práci porovnána s dosaženou citlivostí stanovení selenu metodou chemického generování na základně porovnání směrnice kalibračních závislostí stanovení selenu pro jednotlivé elektrolytické cely, pracujících za optimálních podmínek, se směrnici kalibrační závislosti stanovení selenu pomocí metody chemického generování. Dosažená citlivost stanovení selenu metodou chemického generování byla považována za maximální<sup>1</sup>. Pro dodržení transportu stejného látkového množství analytu za časovou jednotku byla u všech generačních cel, i u chemického generování, zvolena stejná průtoková rychlost 2,5 ml min<sup>-1</sup> elektrolytu katodovým prostorem. Díky tomu bylo možné porovnat kalibrační závislosti jednotlivých elektrolytických cel s chemickým generováním. Na obr. 5 jsou znázorněny kalibrační závislosti stanovení selenu pro jednotlivé konstrukční typy elektrolytických cel včetně chemického generování. Každý konstrukční typ je reprezentován jednou elektrolytickou celou.

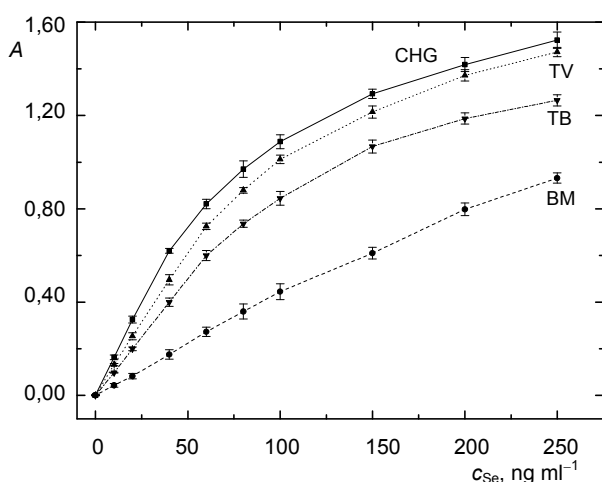
Nejnižší dosažená citlivost stanovení selenu byla obecně pozorována u bezmembránových elektrolytických cel. Je to dáno jejich konstrukcí. Analyt je zaváděn do elektrolytické cely do katodového prostoru a částečně proniká do anodového prostoru spojujícím otvorem, a to nezá-

Tabulka II

Základní charakteristiky stanovení Se a As technikou hydridové AAS s elektrochemickým generováním při použití jednotlivých konstrukčních typů elektrolytických cel a porovnání s chemickým generováním

Elektrolytická cely Analyt	BM <sup>a</sup>		TV <sup>b</sup>		TB <sup>c</sup>		CH <sup>d</sup>	
	Se	As	Se	As	Se	As	Se	As
Mez detekce, ng ml <sup>-1</sup>	0,45	0,12	0,37	0,07	0,40	0,09	0,18	0,05
Mez stanovitelnosti, ng ml <sup>-1</sup>	1,50	0,41	1,23	0,24	1,34	0,31	0,60	0,16
Citlivost · 10 <sup>3</sup> , ml ng <sup>-1</sup>	8,30	37,3	14,9	53,4	14,2	43,3	21,3	74,2
Opakovatelnost – RSD, %	0,62	1,06	0,49	0,72	1,24	1,58	0,57	0,52
Korelační koeficient	0,9988	0,9985	0,9993	0,9994	0,9997	0,9998	0,9965	0,9985
Lineární dyn. rozsah, ng ml <sup>-1</sup>	1,50–200	0,41–50	1,23–100	0,24–20	1,34–100	0,31–20	0,60–70	0,16–15

<sup>a</sup> BM – bezmembránová cely, <sup>b</sup> TV – tenkovrstvá cely, <sup>c</sup> TB – tubulární cely, <sup>d</sup> CH – chemické generování



Obr. 5. Kalibrační závislost stanovení Se pro různé elektrolytické cely v porovnání s chemickým generováním; průtoková rychlost elektrolytu pro všechny elektrolytické cely stejná (2,5 ml min<sup>-1</sup>). Hodnoty pracovních parametrů shodné s optimálními hodnotami. CHG – chemické generování, TV – tenkovrstvá ceta, TB – tubulární ceta, BM – bezmembránová ceta

visle na místě vstupu analytu do katodového prostoru. Část analytu se tak dostává nevyužitá přes anodový prostor do odpadu. Účinnost generování se u těchto konstrukčních typů cel pohybuje kolem 30 % (cit.<sup>19</sup>). Výrazně vyšší účinnost, kolem 90 %, byla pozorována u elektrolytických tubulárních cel (89 %) a tenkovrstvých cel (94 %). Díky velkému povrchu katody v případě tubulární konstrukce dochází k účinné přeměně analytu na hydrid. Vysoká dosažená citlivost elektrochemického generování u žlábkové elektrolytické cely je dána kombinací velmi úzkého a dlouhého katodového kanálku tvořeného přímo katodovým materiálem a vysoké průtokové rychlosti nosného plynu. Bylo pozorováno, že analyt v prostředí katolytu vstupuje do elektrolytické cely ve formě malých a pravidelných zón kapaliny, které velice snadno ulpívají na povrchu katodového žlábků. Díky tomu je velmi vysoká pravděpodobnost kontaktu veškerého analytu s povrchem katody a následná přeměna na těkavou formu. Vysoká rychlost nosného plynu výrazně napomáhá uvolňování vzniklé těkavé sloučeniny analytu z povrchu katody a dále

Tabulka III

Analýza referenčního materiálu NIST SRM 1643e – Stopová množství prvků ve vodě – metodou ECHG-QFAAS (použita tenkovrstvá elektrolytická ceta)

Prvek	Certifikovaná hodnota	Naměřená hodnota
Arsen, ng ml <sup>-1</sup>	60,45 ± 0,72	58,4 ± 5,8
Selen, ng ml <sup>-1</sup>	11,97 ± 0,14	11,3 ± 2,6

přispívá k rychlému transportu těkavé sloučeniny do atomizátoru. Tento typ elektrolytické cely se tudíž vyznačuje i velmi rychlou odezvou, tj. rychlým nárůstem i poklesem signálu analytu.

#### Analýza referenčního materiálu a reálných vzorků

Vzorky referenčního materiálu byly připraveny postupem uvedeným v experimentální části. V těchto vzorcích byl následně stanoven celkový obsah selenu a arsenu. Výsledky analýzy referenčního materiálu NIST SRM 1643e uvádí tabulka III. Výsledky jsou v dobré shodě s certifikovanými hodnotami obou analytů. Nově vypracovaná metoda stanovení selenu a arsenu v pitných vodách byla vyzkoušena i při analýze reálných vzorků pitných a povrchových vod. Vzorky pitné vody byly získány z běžně dostupných balených neperlivých vod (vyzkoušeny dvě různé značky balených vod). Vzorky povrchové vody byly opakovaně odebrány z řeky Vltava v místě Praha – Zámky v období podzim 2009 a jaro 2010. Pro zjištění obsahu selenu a arsenu v reálných vzorcích byla použita žlábková tenkovrstvá tubulární elektrolytická ceta. Vzorky byly před provedením analýzy upraveny podle výše uvedeného postupu. Metodou spikování byly pro pitné vody nalezeny koncentrace obou analytů pod mezí stanovitelnosti. U vzorků povrchové vody byly pro selen nalezeny hodnoty na úrovni meze stanovitelnosti a pro arsen hodnoty v rozmezí 1,4–4,7 ng ml<sup>-1</sup>.

#### Závěr

Vypracovaná metoda umožňuje stanovení selenu a arsenu v pitných vodách o koncentracích řádově nižších než jsou jejich přípustné limity. Správnost metody byla ověřena analýzou referenčního materiálu, získané hodnoty byly v dobré shodě s certifikovanými hodnotami obou analytů. Vypracovaná metoda byla vyzkoušena při analýze praktických vzorků vody odebraných z řeky Vltavy v Praze.

Významnou částí práce bylo zhotovení celé řady jednotlivých elektrolytických cel několika konstrukčně odlišných skupin, optimalizace jejich pracovních parametrů a zjištění základních charakteristik jednotlivých elektrolytických cel.

Velkým úspěchem bylo zhotovení tubulární elektrolytické cely, jejíž vnitřní objem se podařilo, ve srovnání s klasickou tenkovrstvou celou, výrazně minimalizovat za současného zvýšení a dosažení prakticky maximální možné účinnosti elektrochemického generování.

Závěrem lze dodat, že nově zkonstruované elektrolytické průtokové cely (především v tubulárním uspořádání) bude možné díky jejich miniaturnímu vnitřnímu objemu katodového prostoru využít i při spojení s jinou detekční jednotkou nebo mohou být součástí derivatizační jednotky při speciální analýze selenu a arsenu i jiných hydridotvorných prvků po předchozí separaci na chromatografické koloně.

Práce vznikla s finanční podporou rozvojového projektu MŠMT ČR (RP 14/63), výzkumného záměru MSM0021620857 a Grantové agentury Univerzity Karlovy v Praze (projekt SVV 261204).

## LITERATURA

1. Dědina J., Tsalev D.: *Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry*, John Wiley and Sons, Chichester 1995.
2. Laborda F., Bolea E., Castillo J. R.: *Anal. Bioanal. Chem.* 388, 743 (2007).
3. Denkhaus E., Golloch A., Guo X. M., Huang B.: *J. Anal. At. Spectrom.* 16, 870 (2001).
4. Schaumlöffel D., Neidhart B.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 354, 866 (1996).
5. Lin Y. H., Wang X. R., Yuan D. X., Yang P. Y., Huang B. L., Zhuang Z. X.: *J. Anal. Atom. Spectrom.* 7, 287 (1992).
6. Brockmann L., Nonn C., Golloch A.: *J. Anal. At. Spectrom.* 8, 397 (1993).
7. Hueber D. M., Winefordner J. D.: *Anal. Chim. Acta* 316, 129 (1995).
8. Šíma J., Rychlovský P.: *Chem. Listy* 92, 676 (1998).
9. Šíma J., P. Rychlovský: *Spectrochim. Acta, Part B* 58, 919 (2003).
10. Ding W. W., Sturgeon R. E.: *J. Anal. At. Spectrom.* 11, 225 (1996).
11. Ding W. W., Sturgeon R. E.: *Spectrochim. Acta, Part B* 51, 1325 (1996).
12. Denkhaus E., Golloch A., Kampen T. U., Nierfeld M., Telgheder U.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 361, 733 (1998).
13. Machado L. F., Jacintho A. O., Menegario A. A., Zagatto E. A., Gine M. F.: *J. Anal. At. Spectrom.* 13, 1343 (1998).
14. Hueber D. M., Winefordner J. D.: *Anal. Chim. Acta* 316, 129 (1995).
15. Laborda F., Bolea E., Castillo J. R.: *J. Anal. At. Spectrom.* 15, 103 (2000).
16. Červený V., Rychlovský P., Hraniček J., Šíma J.: *Chem. Listy* 103, 652 (2009).
17. Hraniček J., Červený V., Rychlovský P.: *Cent. Eur. J. Chem.* 7, 675 (2009).
18. Jiang X. J., Gan W. E., Han S. P., Zi H. J., He Y. Z.: *Talanta* 79, 314 (2009).
19. Hraniček J., Červený V., Rychlovský P.: *Electronic Book of Abstracts of Colloquium Spectroscopicum Internationale XXXVI, Budapest 2009*, poster PM-79. Hungarian Chemical Society, Budapest 2009.

**J. Hraniček, V. Červený, and P. Rychlovský**  
(Charles University in Prague, Faculty of Science, Department of Analytical Chemistry): **Determination of Ultra-trace Selenium and Arsenic in Drinking Water by Electrochemical Hydride Generation Coupled with Quartz Furnace – Atomic Absorption Spectrometry**

The aim of this study was to develop a method of Se and As determination in drinking water by electrochemical hydride generation coupled with AAS. Three types of electrolytic cells were constructed and optimized for the determination. Two cells (thin-layer and tubular) were finally chosen for their low inner volume and a high hydride generation efficiency (ca. 90 %). The limits of detection of As(III) and Se(IV) were 0.07 and 0.37 ng ml<sup>-1</sup>, respectively. The accuracy of the method was verified using reference materials.

## ROZVOJ INSTRUMENTACE A KATEDER PĚF UK PRAHA

### KATEDRA ORGANICKÉ A JADERNÉ CHEMIE PŘÍRODOVĚDECKÉ FAKULTY UK V PRAZE

MARTIN KOTORA

*Katedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Albertov 2030, 128 42 Praha 2  
Martin.Kotora@natur.cuni.cz*

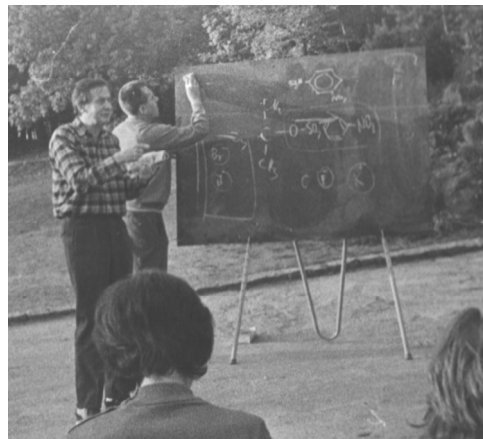
*Tento článek je věnován památce předčasně zesnulého RNDr. Jiřího Kroutila, PhD.*

Klíčová slova: katedra organické chemie, Přírodovědecká fakulta, univerzita Karlova v Praze, výzkum, mezinárodní spolupráce

Katedra organické chemie od počátku svého působení v chemickém ústavu (1905) na Albertově patřila vždy mezi kvalitní pracoviště. V tomto ohledu je nutné připomenout jejího prvního vedoucího, profesora Bohumila Raýmana, žáka Adolfa Würtze a Charlese Friedela, který se zabýval zejména sacharidy (obr. 1). Tato problematika je dnes, po více než sto letech, stále jednou z tradičních výzkumných oblastí. Po dobu existence katedry působila na její půdě celá řada známých vědeckých osobností, byť někteří pouze krátce. Stačí vzpomenout na profesora Františka Šorma, který proslul zejména jako ředitel Ústavu organické chemie a biochemie ČSAV. Jedno období zde přednášel i pozdější profesor VŠCHT Praha Otto Wichterle, který se stal v roce 1989 prezidentem ČSAV.



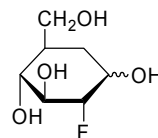
Obr. 1. Profesor Bohuslav Raýman



Obr. 2. Profesoři Černý a Pacák na letní škole

Z osobností, které celý svůj profesní život zasvětily působení na katedře, je vhodné jmenovat profesory Jaroslava Staňka, Aloise Vystrčila, Miloslava Černého, Josefa Pacáka či Jiřího Klinota (obr. 2). Všichni se věnovali studiu přírodních látek, jako jsou terpenoidní sloučeniny či sacharidy. Zvláště činnost na poli sacharidů byla velice plodná a vedla ke světově uznávaným výsledkům. Důkazem jsou dnes již klasické monografie Monosacharidy a Oligosacharidy, které ve své době sloužily jako základní úvod do této problematiky po celém světě. Mezi významné objevy patří první syntéza 2-deoxy-2-fluor-D-glukosy (obr. 3, cit.<sup>1</sup>), která je dnes masově využívána v pozitronové emisní tomografii (PET).

Jak napovídá již sám název, vědecko-výzkumná činnost na katedře organické a jaderné chemie zahrnuje v současnosti témata sahající v souladu s vývojovými trendy od klasické organické chemie až po využití radioaktivních prvků. Mezi tradiční zájem stále patří studium sacharidů a terpenoidních sloučenin, zvláště s ohledem na jejich potenciální biomedicínské využití. Z nových oborů se jedná zejména o vývoj nových reakcí zprostředkovaných sloučeninami přechodných kovů, asymetrické reakce a jejich využití v organické syntéze. Slibně se rozvíjejícím oborem je supramolekulární chemie a její využití pro při-



Obr. 3. 2-Deoxy-2-fluor-D-glukosa

pravu chemických senzorů a molekulární elektroniky. Dále se jedná o fytoremediaci a syntézu značených sloučenin pro diagnostické účely. Pozornost je věnována i teoretické a fyzikální organické chemii. Samozřejmou součástí výzkumné činnosti jsou projekty zabývající se moderními analytickými metodami, bez nichž dnes není možné se obejít. Sem patří zejména nukleární magnetická rezonance (NMR), hmotnostní spektrometrie (MS), či infračervená spektroskopie (IR).

Šířka záběru výzkumu se odráží i na četných kontaktech a spolupráci se zahraničními pracovišti zabývajícími se podobnou problematikou. Studenti organické chemie tak mohou část svých diplomových úkolů vypracovat i v zahraničí v rámci programu ERASMUS, a získat cenné zkušenosti pro svůj další profesní růst. Řada ocenění získaných studenty ať již na domácí půdě (ceny fy Sigma-Aldrich, ceny za nejlepší přednášku O. Červinky udělovanou ČSCH, Hlávkova cena, atd.) či v zahraničí (ceny za nejlepší postery na mezinárodních konferencích) tuto skutečnost potvrzuje.

Za zmínku stojí i konkrétnější představení jednotlivých výzkumných skupin soustředěných kolem členů katedry.

Studium monosacharidů a polysacharidů je soustředěno kolem prof. Tomáše Trnky, Dr. Jiřího Kroutila a doc. Jindřicha Jindřicha. Tým prof. Trnky zahrnuje Dr. Janu Polákovou, Dr. Jaroslava Pecku, Dr. Viktora Bakose a spolu s Dr. Kroutilem se zabývají výzkumem monosacharidů a to hlavně z hlediska funkčních přeměn a jejich reakčních mechanismů. Jako konkrétní příklad může sloužit studium štěpení aziridinového kruhu 1,6-anhydrohexos nukleofilními činidly k získání substituovaných aminocukrů. Tento projekt má dva cíle. Prvním je zjištění závislosti reaktivity určité konfigurace sacharidu na charakteru nukleofilu ve smyslu teorie měkkých a tvrdých kyselin a zásad (HSAB) a vztahu k aplikovatelnosti Fürstova-Plattnerova pravidla<sup>2,3</sup>. Druhým cílem je aplikace těchto poznatků pro přípravu fluorderivátů aminopyranos s přírodní (D-glukosamin, D-galaktosamin, D-mannosamin) i nepřírodní konfigurací (D-*ido* a D-*talo*). Tento projekt tak navazuje na úspěšnou syntézu a aplikaci 2-deoxy-2-fluor-D-glukosy. Dalším projektem je syntéza dendrimerních

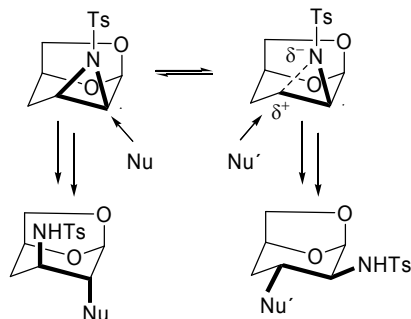
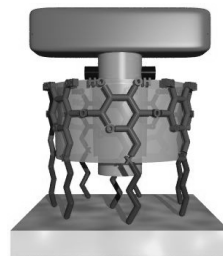


Schéma 1. Regioselektivní štěpení epiminoderivátů 1,6-anhydrohexos nukleofily

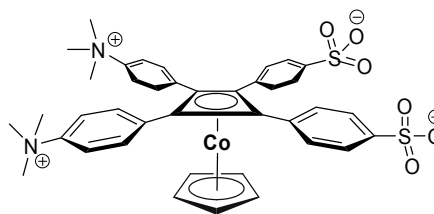
polysacharidů na bázi D-glukosy, D-galaktosy, L-fukosy či jiných monosacharidů. Vzniklé polysacharidy pak mají sloužit jako „targeting groups“ pro kontrastní látky využívané při MRI (magnetic resonance imaging) nebo radio-diagnostice.

Nosným programem týmu doc. Jindřicha je syntéza a využití cyklodextrinů v různých oblastech chemie. Řešení je založeno na syntéze regioselektivně substituovaných cyklodextrinů a jejich využití jako stavebních jednotek pro tvorbu samoskladebných struktur a konstrukcí chemosenzorů<sup>4</sup>. První téma se týká konstrukce konjugátů cyklodextrinu s makrocyclickými ligandy vázanými na ušší straně kavity, které jsou perspektivně použitelné v magnetické rezonanční tomografii. Druhé téma se zabývá možným využitím katalytického vlivu cyklodextrinových derivátů na zastoupení různých diastereomerů vznikajících při radikálové intramolekulární cyklizaci chirálních derivátů jodalkenů. Třetí a poslední oblast pokrývá nanotechnologie se zaměřením na přípravu molekulárních rotorů navázaných na pevnou fázi. Tato koncepce je založena na zakotvení cyklodextrinů na pevnou fázi a inkluzi centrálního rotoru do kavity cyklodextrinu (obr. 4). Je studována schopnost samoskladby těchto rotorů a jejich použitelnost pro molekulární elektroniku.

Podobné zaměření má i další projekt, tentokrát založený na využití sandwichových komplexů kobaltu v molekulární elektronice<sup>5</sup>. Centrálními sloučeninami jsou tetraaryl(cyklobutadien-cyklopentadien)kobaltové komplexy (obr. 5), které jsou vhodné pro samoskladbu za tvorby čtvercových sítí. Díky vysoké hodnotě dipólového momentu, která je způsobena přítomností amoniové a sulfo-



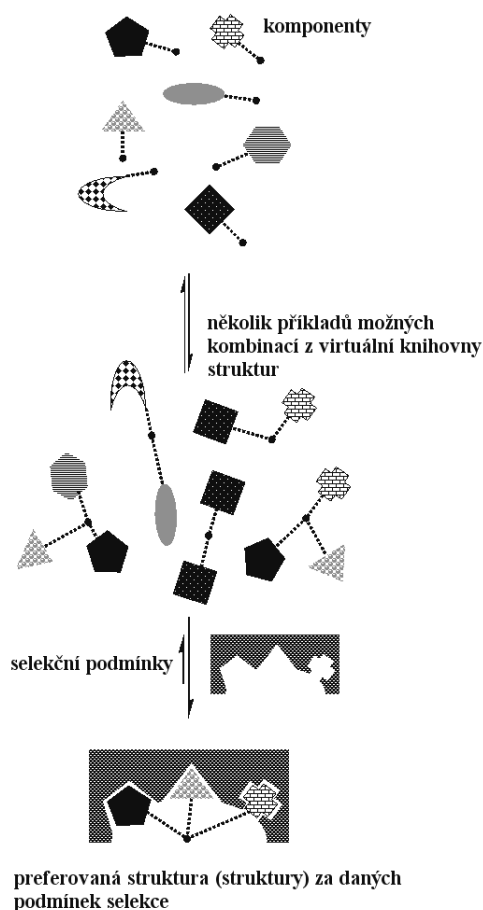
Obr. 4. Rotor



Obr. 5. Tetraaryl(cyklobutadien-cyklopentadien)kobaltový komplex

nátové skupiny v molekule, mají tyto sloučeniny vhodné vlastnosti pro využití v molekulární elektronice.

Na katedře je i nově založená skupina Dr. Dušana Drahoňovského věnující se konstituční dynamické chemii. Její doménou je studium konstitučně různorodých dynamických systémů, které prostřednictvím molekulárních a supramolekulárních interakcí reagují na změny vnitřních



Obr. 6. Schématické znázornění generování virtuální dynamické knihovny struktur

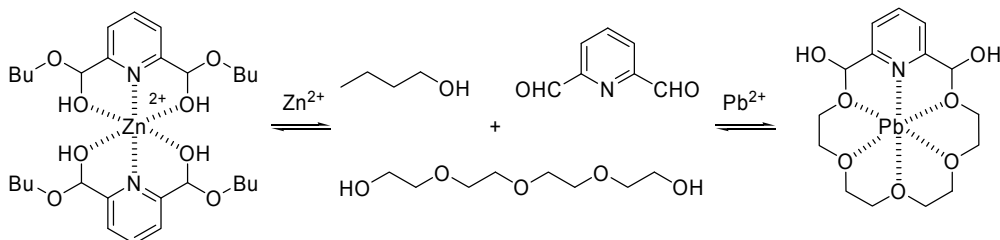
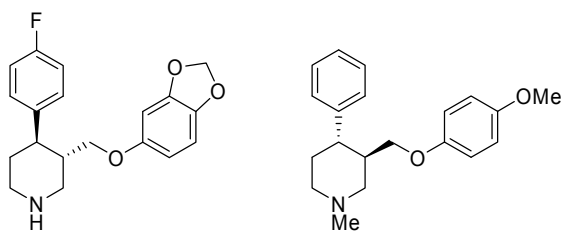


Schéma 2. Příklad selektivní tvorby struktur ze směsi komponent

a vnějších faktorů (re)-adaptací své konstituce. Konkrétnější variantou konstituční dynamické chemie je dynamická kombinatoriální chemie, jež se zabývá studiem systémů, které prostřednictvím reverzibilních spojení komponent tvoří virtuální kombinatoriální knihovny struktur zahrnující všechny možné kombinace vzájemného propojení komponent, jaké mohou být teoreticky generovány (obr. 6). Z reakcí, které jsou v nějaké podobě zkoušeny pro účely dynamické konstituční chemie, je možno zmínit tvorbu iminů (Schiffovy báze), tvorbu hydrazonů, oximů, disulfidů, esterů boronových kyselin, acetalů, Diels-Alderovy reakce, aldolové kondenzace, Michaelovské adice a transacylace. Zajímavá se jeví též tvorba a stabilizace poloacetalů, které vznikají reverzibilní adicí alkoholů na karbonylové sloučeniny. Jako ilustrační příklad lze uvést vznik rozdílných poloacetalů v přítomnosti zinečnatých či olovnatých solí (schéma 2). Aplikace těchto poznatků potom vede ke konstrukcím dynamických materiálů, jako je např. již námi patentovaný systém založený na poloacetaltech pro kontrolované uvolňování vonných látek.

Laboratoř Dr. Jana Veselého se zabývá hlavně využitím organokatalytických reakcí v asymetrické syntéze. Její podstatou je snaha připravit z jednoduchých a snadno dostupných sloučenin látky chirální, jež mohou dále sloužit jako stavební jednotky např. pro výrobu léčiv. Využití katalytických schopností malých organických molekul představuje komplementární přístup k tradiční katalýze založené na využití přechodných kovů a jejich sloučenin. Oproti tradičnímu postupu přináší organokatalýza některé výhody, např. umožňuje syntézu farmaceutických substancí, kde je kontaminace produktu kovem nežádoucí, a je šetrná k životnímu prostředí.

Jeden z projektů je zaměřen na využití konceptu organokatalýzy na alternativní syntézu vybraných antidepressiv – paroxetinu a femoxetinu (obr. 7). Klíčovým krokem je tandemová reakce  $\alpha,\beta$ -nenasyceného aldehydu s 1,3-amidoestery katalyzovaná deriváty prolinu vedoucí k tvorbě asymetricky substituovaného šestičlenného kruhu. Další oblastí výzkumu je příprava enantiomerně čistých látek obsahujících ve své molekule atom fluoru, které mohou nalézt využití v řadě odvětví, a to zejména v medicíně, kde je fluorace v současné době užívána především ke zvýšení metabolické stability léčiv, a tím i jejich biodostupnosti. Syntéza těchto sloučenin je založena na enantioselektivní konjugované adici 2-fluormalonátů na aromatické  $\alpha,\beta$ -ne-



Obr. 7. Antidepresiva (-)-paroxetin a (+)-femoxetin

nasyčené aldehydy za katalýzy komerčně dostupnými deriváty pyrrolidinu (schéma 3, cit.<sup>6</sup>).

Skupina soustředěná okolo doc. Stanislava Smrčka a Ing. Šárky Pšondrové se zabývá problematikou interakcí organických sloučenin s biologickými systémy. Jedná se o multidisciplinární obor na pomezí organické chemie, biochemie a biologie, jehož cílem je fyto-remediace jako metoda dekontaminace životního prostředí od organických ekopolutantů. S tím souvisí jak studium záhytu kontaminantů, tak i řešení otázky biotransformací organických sloučenin v rostlinných tkáních, případně ukládání původních kontaminantů a jejich metabolitů v rostlinách. Typickou studovanou skupinu tvoří látky ohrožující savčí endokrinní systém („endocrine disruptors“), které jsou ostře sledovány v ekosystému jak v rámci EU tak i v USA. Ke studovaným látkám patří především chlorované fenoly, mošusové látky, které jsou součástí vonných komponent pracích prášků, či estrogyeny z perorálních kontraceptiv (obr. 8). Hlavním objektem studia je biotransformace organických sloučenin ve tkáňových kulturách vyšších rostlin, která umožňuje blíže popsat děje probíhající na úrovni interakce rostliny s prostředím a charakterizovat látky z hlediska aktivity či inaktivace jejich biologické aktivity. Tato problematika úzce souvisí s analýzou organických sloučenin v ekosystémech jako nezbytné součásti všech studií a s vývojem nových metod stanovení vybraných polutantů ve vodních systémech<sup>7</sup>.

Ve spolupráci s doc. Ladislavem Lešetickým je studována i příprava radioaktivně značených sloučenin pro studium osudu organických sloučenin v ekosystému, stejně tak jako pro studium kancerogeneze a farmakologické účely<sup>8</sup>. Pomocí uvedených sloučenin lze účinně sledovat tvorbu metabolitů rozličných xenobiotik a jejich inkorporaci do biologických struktur. Příkladem mohou být studie s tritiem značenými analogy *o*-anisidinu, sanquinarinu, ochratoxinu A a aristolochové kyseliny či studie osudu pentachlorofenolu v rostlinách za použití <sup>14</sup>C značeného

Obr. 8. Sterilní hydroponická kultura pelušky jarní (*Pisum sativum*) při fytoextrakci naproxenu a diklofenaku z kultivačního média

pentachlorofenolu.

Velmi aktivně působí laboratoř Dr. Jany Roithové. Výzkumný program je zaměřen na studium elementárních kroků v organických a organokovových reakcích pomocí metod hmotnostní spektrometrie, iontové spektroskopie a kvantové chemie. Cílem je prohlubování celkového porozumění reakčním mechanismům a formulování nových obecných konceptů v organické a organokovové reaktivitě<sup>9</sup>. V tomto ohledu stojí za zmínku, že na základě svých úspěchů se letos Dr. Rothová stala nositelkou prestižního grantu evropského grantu ERC (European research Council) pro mladé vědce.

Hmotnostní spektrometrie ve spojení s elektro-sprejovou ionizací může být využita ke zkoumání složení reakčních směsí (obr. 9). Roztok se přivádí přímo do hmotnostního spektrometru a jednotlivé částice reakční směsi se detegují ve formě iontů. Ionizované částice můžeme postupně hmotnostně izolovat od ostatních složek směsi a zkoumat jejich vlastnosti. Studium monomolekulární reaktivity poskytuje informace o struktuře iontů a o vazebných energiích mezi jejich komponentami. Můžeme tak např. zjistit energii vazby mezi organokovovým katalyzátorem a substrátem. Můžeme také studovat reaktivitu iontů s dalším reaktantem a zjistit kinetiku dané reakce<sup>10</sup>.

Iontová spektroskopie, někdy nazývaná akční spektroskopie, je založena na detekci fragmentace iontů vyvolané absorpcí fotonů. Při měření např. infračervených spekter hmotnostně izolovaných iontů tedy nesledujeme absorpci fotonů spektrofotometricky, ale pomocí detekce iontových fragmentů. Závislost intenzity fragmentace na

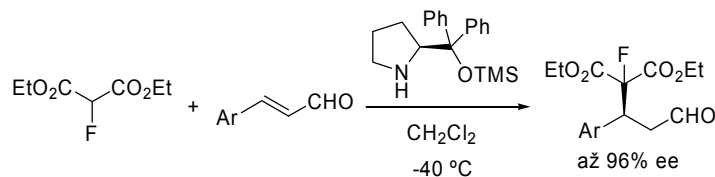
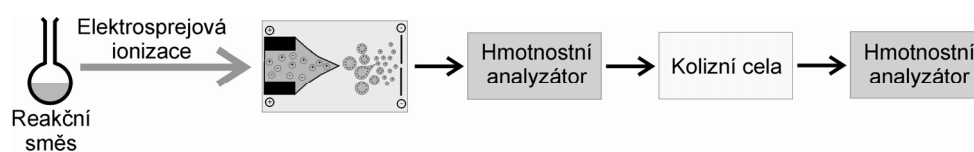
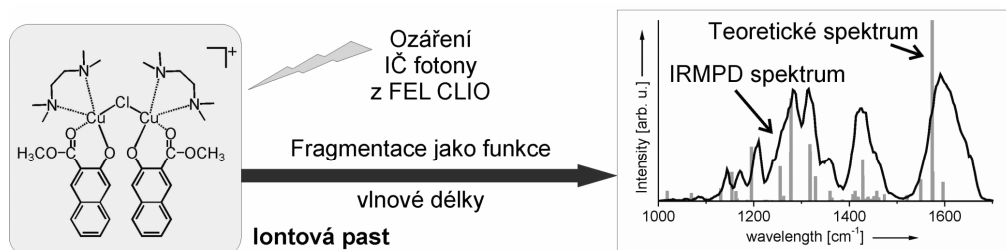


Schéma 3. Enantioselektivní adice 2-fluormalonátu na cinnamaldehyd



Obr. 9. Schématické znázornění identifikace pomocí tandemové hmotnostní spektrometrie



Přifažení struktury intermediátu na základě porovnání experimentálního a teoretického IČ spektra

Obr. 10. Schématické znázornění studia a struktury reaktivních intermediátů pomocí srovnání naměřených a vypočítaných IČ spekter

vlnové délce fotonů pak odpovídá infračervenému spektru (obr. 10). Zatímco hmotnostní spektrometrie nám poskytuje informace o hmotnosti iontu a jeho reaktivitě, iontová spektroskopie přináší informace o jeho struktuře. Kombinací obou metod lze plně charakterizovat jednotlivé složky reakční směsi a identifikovat reaktivní částice. Spojením experimentálních výsledků s detailním teoretickým studiem reakce vede ke komplexnímu obrázku o dané reakci a jejím reakčním mechanismu<sup>11</sup>.

Skupina prof. Martina Kotory je zaměřena na využívání reakcí zprostředkovaných stechiometrickým či katalytickým množstvím komplexů přechodných kovů. Téma zahrnuje jak vývoj a studium nových reakčních postupů, tak jejich aplikaci v syntéze přírodních či biologicky aktivních látek. Komplexy přechodných kovů často v organické syntéze umožňují transformace, jichž nelze dosáhnout pomocí klasických organických postupů, a to jak z hlediska selektivity (enantioselektivita, regioselektivita, a diastereo selektivita) a reakčních podmínek (nízké reakční teploty 0–100 °C nebo tlaky okolo 1 atm), tak z hlediska počtu přeměněných či nově vzniklých vazeb. Jako typický příklad je možné uvést syntézu chirálních nesymetricky substituovaných tetrahydroisochinolinů ve třech reakčních stupních z komerčně dostupné látky, kdy klíčovým krokem je cyklotrimerizace dvou alkyňů a jednoho nitrilu katalyzovaná komplexem kobaltu. Vzniklé sloučeniny pak slouží jako chirální katalyzátory pro enantioselektivní allylace aldehydu za vzniku homoallylových alkoholů, které se jeví jako užitečné stavební bloky pro syntézu přírodních látek, např. goniotalaminu (schéma 4, cit.<sup>12</sup>).

Reakce založené na aplikaci přechodných kovů byly použity i pro vývoj nových syntéz látek se steroidním ske-

letem jako je estron<sup>13</sup>, nebo při jejich modifikacích zavedením perfluoralkylovaných, arylových<sup>14</sup> a karboranových funkčních skupin. Pozornost je zaměřena i na jiné typy sloučenin, jako jsou deriváty deoxyribosy, ribosy a purinů. Z hlediska vývoje nových reakcí je cílem aktivace jednoduchých vazeb uhlík–uhlík, které jsou součástí cyklického nebo lineárního řetězce (např. u C-allylmalonátů) nebo štěpení cyklobutanového kruhu bifenylenů, které vede k jejich následné funkcionalizaci. Část studované problematiky je i zaměřena na syntézu a reaktivitu substituovaných Dewarových benzenů jako reprezentantů energeticky bohatých organických sloučenin (obr. 11).

Mezi další členy katedry patří Dr. Martin Štícha (hmotnostní spektrometrie), Dr. Stanislav Hilgard (infračervená spektroskopie) a Dr. Iva Plutnarová (NMR), jejichž odborné znalosti a činnost jsou nezbytným faktorem pro hladký průběh výzkumu na katedře.

Děk patří i Bohuně Šperlichové a Jaroslavě Čečrdlové (laborantky) a Ludmile Petrákové (sekretářka), bez jejich práce by katedra nemohla fungovat tak dobře, jak funguje.

Katedra v rámci vědecké činnosti rozvíjí spolupráci jak s ostatními katedrami UK, tak s celou řadou tuzemských vysokých škol (VŠCHT Praha, Jihočeská univerzita, Masarykova univerzita, atd.) a ústavů Akademie věd ČR (Ústav organické chemie a biochemie, Ústav molekulární genetiky, Algologický ústav v Třeboni) či zahraničními pracovišti (University of Glasgow, University of Sund, University of Barcelona, GSF Mnichov, Swiss Federal Institute of Technology Lausanne, Linköpings Universitet ve Švédsku, Institut de Science et d'Ingénerie Supramoléculaires-Strasbourg, a další).



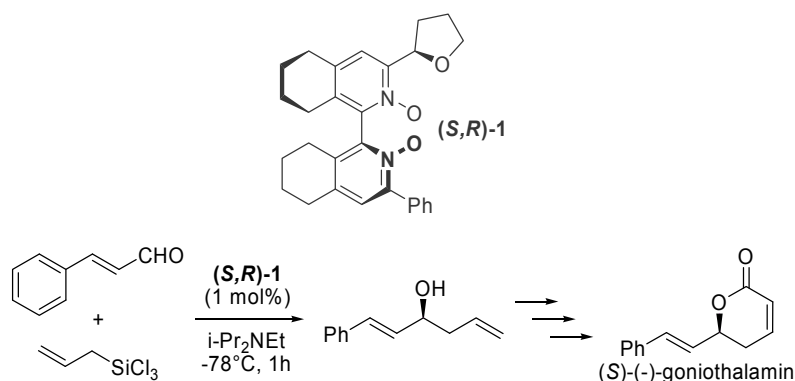
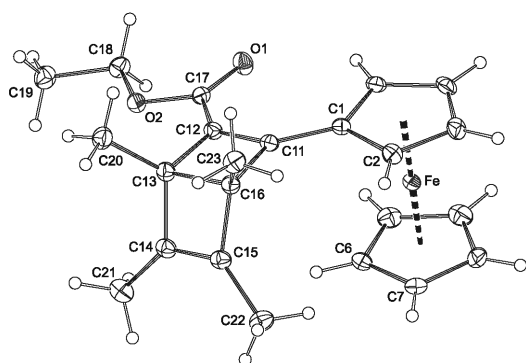


Schéma 4. Chirální nesymetricky substituovaný bis(tetrahydroisochinolin) a jeho využití v katalýze enantioselektivní allylace aldehydů



Obr. 11. Konjugát ferrocenu a Dewarova benzenu

## LITERATURA

1. Pacák J., Černý M.: Chem. Listy 96, 704 (2002).
2. Karban J., Kroutil J., Buděšínský M., Sýkora J., Císařová I.: Eur. J. Org. Chem. 36, 6399 (2009).
3. Karban J., Sýkora J., Kroutil J., Císařová I., Padělková Z., Buděšínský M.: J. Org. Chem. 75, 3443 (2010).
4. Vrkoslav J., Jelínek I., Trojan T., Jindřich J., Dian J.: Physica, E 38, 200 (2007).
5. Valášek M., Pecka J., Jindřich J., Calleja G., Craig P. R., Michl J.: J. Org. Chem. 70, 405 (2005).
6. Číhalová S., Remeš M., Císařová I., Veselý J.: Eur. J. Org. Chem. 2009, 6277.
7. Golan-Goldhirsh A., Barazani O., Nepovím A., Soudek P., Smrček S., Dufková L., Křenková S., Yrjala K., Schröder P., Vaněk T.: J. Soil. Sediments 4, 69 (2004).
8. Stiborová M., Mikšanová M., Havlíček V., Smrček S., Bieler Ch., Breuer A., Klokow K. A., Schmeiser H. H., Frei E.: Carcinogenesis 25, 833 (2004).
9. Roithová J., Schröder D.: Chem. Listy 103, 636 (2009).
10. Roithová J., Schröder D.: Chem. Rev. 110, 1170 (2010).
11. Roithová J., Milko P.: J. Am. Chem. Soc. 132, 281 (2010).
12. Kadlčíková A., Valterová I., Ducháčková L., Roithová J., Kotora M.: Chem. Eur. J. 16, 9442 (2010).
13. Betík R., Herrmann P., Kotora M.: Eur. J. Org. Chem. 2010, 646.
14. Sedlák D., Novák P., Kotora M., Bartůnek P.: J. Med. Chem. 53, 4290 (2010).

**M. Kotora** (Department of Organic and Nuclear Chemistry, Faculty of Science, Charles University in Prague): Department of Organic and Nuclear Chemistry of Faculty of Science of Charles University in Prag

The department of organic chemistry has always been at the forefront of research since its establishment in 1905 in a newly constructed building at Albertov. During the span of more than 100 years a number of leading Czech scientist in the area of organic chemistry have spent there their whole careers (e.g. Raýman, Černý, Pacák, Staněk) or were to bigger or lesser extent associated with it (e.g. Šorm, Wichterle, etc.). The current research endeavors in the department encompass several areas: chemistry of natural products (saccharides, polysaccharides, and their transformations), physical organic chemistry (reaction mechanism, quantum chemistry), macro- and supramolecular chemistry (host-guest chemistry, self-assembly), molecular electronics (molecular wires and nets), catalysis (transition metal catalyzed transformations, organocatalysis), organic synthesis (synthesis of natural products and biologically active compounds), phytoremediation (degradation of organic compounds in Nature), synthesis of isotopically labeled compounds for medicinal purposes, and analysis of organic compounds (mass spectrometry, NMR, IR, etc.). Most of the above mentioned research activities are carried out in cooperation with domestic as well as foreign universities or research institutions.

## INFRAČERVENÁ A RAMANOVA SPEKTROSKOPIE NA KATEDRÁCH CHEMIE PŘÍRODOVĚDECKÉ FAKULTY UNIVERZITY KARLOVY V PRAZE – OD HISTORIE K SOUČASNOSTI

BOHUSLAV STRAUCH<sup>a</sup>, BLANKA VLČKOVÁ<sup>b</sup>  
a IVAN NĚMEC<sup>a</sup>

Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta,  
<sup>a</sup> Katedra anorganické chemie, <sup>b</sup> Katedra fyzikální a makromolekulární chemie, Hlavova 8, 128 40 Praha 2  
agnemec@natur.cuni.cz

Došlo 19.8.10, přijato 14.10.10.

Klíčová slova: Ramanova spektroskopie, infračervená spektroskopie, SERS, vodíková vazba

### Obsah

1. Historie – vzpomíná Bohuslav Strauch
2. Spektroskopie povrchem zesíleného Ramanova rozptylu – Blanka Vlčková
  - 2.1. Princip povrchem zesíleného Ramanova rozptylu
  - 2.2. Studovaná témata
3. Spektroskopie krystalických materiálů s vodíkovými vazbami – Ivan Němec
  - 3.1. Obecné aspekty vodíkové vazby
  - 3.2. Vodíková vazba z pohledu vibrační spektroskopie
  - 3.3. Studované materiály
4. Závěr

### 1. Historie

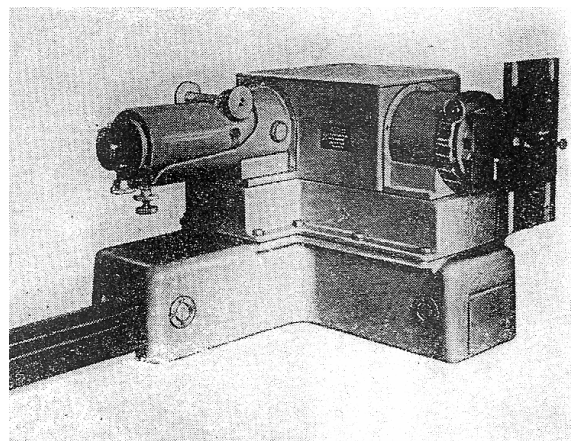
První souvislejší zmínky o infračervených spektrech spadají na Albertově do roku 1958 jako součást pokročilejších přednášek organické chemie. Externě přednášejícím byl Dr. Milan Horák, původem organický chemik, tehdy člen spektroskopické skupiny v Ústavu organické chemie a biochemie ČSAV, vedené prof. J. Plívou. Žádný přístroj v té době ke studiu vibračních spekter v budově chemie, ani na univerzitě nebyl.

Po brněnském veletrhu v r. 1959 se na katedře anorganické chemie nečekaně objevily robustní bedny ze sovětské expozice s tajemným obsahem. Ze záhadné zásilky se vyklubal tříhranolový spektrograf pro viditelnou oblast s 2 vyměnitelnými kamerami, optická lavice (obr. 1), reflektor pro měření spekter kombinovaného rozptylu („спектры комбинационного рассеяния“), jinak Ramanova rozptylu, s příslušenstvím – celá soustava pod názvem ISP 51 a generátor jiskry a oblouku pro emisní spektra.

V druhé půli 50. let se na seminářích katedry anorganické chemie v rešeršované literatuře tehdy nejdůležitějšího anorganického časopisu, *Z. Anorg. Allgem. Chem.*, těšily velkému zájmu občas prezentované výsledky Ramanových spekter, zejména z drážďanské školy prof. A. Simona, protože přinášely nové zásadní informace o struktuře anorganických sloučenin. Proto možnost měřit a studovat Ramanova spektra byla na anorganice vítána, nicméně nikdo se do nové, neznámé metody nehrnul. Nakonec bez rozpaků a úvah, s nižádným povědomím o spektroskopii, navíc molekulové, jsem se do toho jako mladý asistent pustil já. Netušil jsem, že mne bude provázet snad doživotně.

Při bližší rekonstrukci komponent soustavy jsme zjistili, že ve spektrografu ze tří hranolů v tzv. Fersterlingově uspořádání bylo, žel, Abbeho pětiboké prisma poškozené. Reklamace závady trvala déle jak rok. Mezitím jsem získával elementární informace a rady jednak od svého spolužáka, J. Štokra, a M. Holuba z Plívovy laboratoře „u Šormů“, kde začali zkoumat Ramanův efekt o něco dřív, jednak u emisních spektroskopiků a zejména z literatury. Po reklamačním návratu spektrografu ze sovětské země první měření nastala na podzim roku 1960.

Jak se měřilo? Nejprve bylo nutno seřadit šterbinu a polohu kolimátoru, orientaci stolku s hranoly a vhodný úhel kamery s fotografickou deskou jednak vizuálně spektrem rtuťové výbojky, jednak fotograficky obloukovým emisním spektrem železa z optické lavice. Jako zdroj etalonového spektra železa sloužily hřeby „krováky“ z Rottova železářství, upnuté do jiskřičky. Tzv. měkké železo obsahovalo ve viditelné části spektra kupodivu jen velmi slabé stopy manganu. Aparatura byla tak připravena pro měření Ramanových spekter, buzených Hg e-čarou (435,86 nm). Pro buzení spekter jinými čarami rtuťového



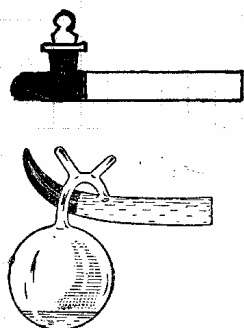
Obr. 1. Tříhranolový skleněný spektrograf ISP 51

spektra bylo nutno justaci spektrografu upravovat.

Vlastní měření Ramanových spekter: V reflektoru soupravy ISP 51 bylo možno měřit pouze kapalinové vzorky ve válcových skleněných kyvetách (obr. 2) s plochým výstupním okénkem, na opačném konci začerněných. Objem prvních kyvet byl 20 a 6 cm<sup>3</sup>. Kyveta se upevnila do jednoho ohniska eliptického, vodou chlazeného reflektoru, v druhém ohnisku byla paralelně fixovaná křemenná rtuťová výbojka PRK 2, oddělená od vzorkového prostoru chladicím skleněným průtokovým filtrem z důvodu silné tepelné radiace výbojky, a optickým filtrem, sloužícím k izolaci budícího záření a potlačení ostatních čar a pozadí rtuťového spektra. Optický filtr byl buď skleněný nebo kapalinný (pro Hg e-čáru používán nasycený vodný roztok dusitanu draselného). Intenzita světelného toku budícího záření se zvyšovala napařováním stěn reflektoru oxidem hořečnatým. Křemenná Hg výbojka též jako zdroj UV záření zvyšovala koncentraci ozonu v laboratoři, což se mimo jiné projevovalo křehnutím chladicích pryžových hadic a dalších předmětů z podobných materiálů.

Příprava vzorku: V předlaserové Ramanově spektroskopii byl úspěšný záznam spektra podmíněn již přípravou vzorku. Zkoumaná látka nesměla přijít *ab initio* do styku s materiály, generujícími fluorescenci, tedy jev o mnohem větší intenzitě než Ramanův rozptyl. Od počátku bylo proto třeba se vyhýbat tukům (např. zábrusy), pryžovým předmětům, staniolové fólii apod. Kapalina v kyvetě musela být „opticky prázdná“, bez prachových nebo jiných částic, působících Tyndallův jev, rovněž překrývající Ramanův rozptyl. Proto kapaliny se buď destilovaly do „bezprašné“ kyvety v uzavřeném systému, u vodných roztoků se používala dvakrát destilovaná voda a filtrace přes fritu G5 do uzavřeného systému. Příprava vzorků vyžadovala zkušenosti, často různé úpravy a způsobovala mnohé potíže.

Záznam Ramanova spektra byl na speciální fotografické desky (vysoká citlivost a jemnozrnnost), expozice se pohybovala od několika minut po desítky hodin (podle vzorku). K fotografickému záznamu Ramanova spektra se zároveň snímalo emisní spektrum železa, sloužící jako standard vlnových délek, protože skleněný hranolový spektrograf měl nelineární dispersi, zejména v naší měře-



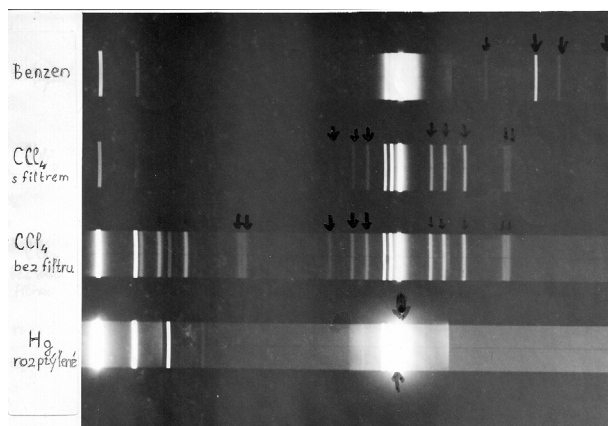
Obr. 2. Kyvety na kapaliny (s plochým výstupním okénkem, opačný konec kyvety začerněn – eliminace reflexů)

né oblasti mezi 400–490 nm. Na jednu desku bylo možno snímat více spekter, po vyvolání a vysušení byla spektra proměřována na Abbeho komparátoru, kombinovaném mikroskopu s měřicí škálou s přesností 10<sup>-3</sup> mm. Měřily se vzdálenosti jednotlivých spektrálních čar ke „vztažné“ Hg d-čáře a vypočteny posuny od budící Hg e-čáry. Ukázka fotografického záznamu rozptýleného světla rtuť, Ramanova spektra CCl<sub>4</sub> (Stokesovy a anti-Stokesovy čáry), buzené bez optického filtru Hg e- a Hg k-čarami, tentýž vzorek s optickým filtrem pro Hg e-čáru a obdobně spektra benzenu je na obr. 3. Zmíněná spektra bylo možné při širší vstupní štěrbině pozorovat v zatemněné místnosti pouhým okem. Později jsme pomocí Hofmannovy rovnice sestavili tabulky s korekcí na nelineární disperzi, odpadlo tím snímání spektra železa, a z fotometrického záznamu spektra pomocí klínového fotometru čs. výroby nebo rychlofotometru C. Zeiss, Jena podle „d-čáry“ Ramanova spektra vyhodnocovali. Únavná měření s komparátorem tak odpadla, vlnočtová přesnost Ramanových posunů byla zachována.

Podrobný, záměrně zde uvedený popis získávání Ramanových spekter v době předlaserové excitace svědčí o náročném a zdoluhavém, až úmorném, experimentální práci; jistou útechou bylo, že byť aparatura a další komponenty byly dost prostinké, nám byly vesměs snadno přístupné k opravě, žádný „black box“. Nicméně laboratoři s Ramanovou spektroskopií bylo pomálu.

V dubnu 1962 jsem strávil měsíc na Ústavu anorganické chemie Technické univerzity v Drážďanech, kde jsem získával další zkušenosti při měření Ramanových spekter kapalin i pevných látek a také měření infračervených spekter kapalin, pevných látek a plynů na spektrofotometru UR 10 (C. Zeiss, Jena). Na drážďanském pracovišti jsem mimo jiné poznal, že náš sovětský spektrograf je horší kopií Zeissova Dreiprismenglasspektrografu a kolegyně kopii Hilger-Watts.

UVědomil jsem si tehdy nezbytnost studovat molekulová spektra oběma metodami a začal honbu za infračerve-



Obr. 3. Fotografický záznam spekter rozptýleného záření budící rtuťové výbojky a Ramanových spekter CCl<sub>4</sub> a benzenu (více v textu)

ným spektrometrem. Snad asi v té době se na organické chemii objevil sovětský dvoupaprskový infračervený spektrometr IKS 14, danajský to dar. Daleko lépe sloužil registrační spektrofotometr s jedním hranolem NaCl z vývojových dílen ČSAV z Brna s rozsahem od  $800\text{ cm}^{-1}$  do oblasti valenčních vibrací C-H, kde však jeho rozlišovací schopnost byla špatná. Servisně na organice působila Mgr. Mirka Podzimeková, infračervená spektra zde tehdy nebyla samostatně zkoumána.

Co jsme začali zkoumat? Nejprve to byla měření Ramanových spekter běžných kapalných látek, např. koncentrovaná kyselina sírová, organické látky, ale také enantiomery tartaroboritanů s velmi složitými spektry. Lépe čitelná v tomto případě byla infračervená spektra, jež nám tehdy externě měřil K. Mach na Ústavu fyzikální chemie ČSAV, nicméně tehdy studium optické aktivity ve vibračních spektrech bylo nad síly jak Ramanských, tak infračervených metod. Poměrně pěkná Ramanova i infračervená spektra poskytovalo studium sloučenin, odvozených od kyseliny amidosírové a sulfurylamidu, o nichž jsem referoval již r. 1964 v Bratislavě na mezinárodně výborně obsazeném Symposiu o struktuře a vlastnostech koordinačních sloučenin. Později se k těmto sloučeninám vrátil I. Veverka ve své kandidátské dizertační práci (PĚF UK, Praha 1986).

Objektem detailní Ramanovské spektroskopické studie byla interakce dusičnanových částic s kationy  $\text{Sc}^{3+}$ , kdy se z depolarizačního faktoru a interpretace spekter podařilo prokázat podmínky dvoj- a jednovazné koordinace nitratoskupiny<sup>1,2</sup>. Výsledky studia koordinace nitrato- a sulfatoskupiny a interakce chloristanového aniontu se skanditými ionty pomocí vibračních spekter byly prezentovány v mé kandidátské dizertaci (PĚF UK, Praha 1967). Vliv lanthanoidové kontrakce na vibrace nitratoskupin u odpovídajících dusičnanů byl následně studován v několika diplomových a rigorozních pracích.

Honba za infračerveným spektrometrem odpovídala socialistickému plánování, protože nejdřív přišel lis na tablety, potom vibrátor dle M. von Ardenne a další příslušenství, koncem roku 1967 pak kýžený infračervený spektrofotometr UR 20 (C. Zeiss, Jena), vážící 600 kg! Postupně jsme příslušenství doplnili o další kyvetové materiály ( $\text{CaF}_2$ ,  $\text{AgCl}$ ,  $\text{KRS5}$ ), plynovou dlouhocestnou kyvetu, teplotní zařízení pro snímání spekter při nižších i vyšších teplotách, sekundární zapisovač. Paleta spektrálních měření se stala pestřejší, např. infračervená spektra kyslíkatých sloučenin jodu<sup>3</sup>.

Také Ramanův spektrograf byl vylepšen reflektorem Ramanleuchte (C. Zeiss, Jena) s dvěma chlazenými nízkotlakými výbojkami a kyvetkami o objemu  $1,5\text{ cm}^3$ . Mohli jsme tak přednést např. rozsáhlou studii vibračních spekter dusičnanů III. b skupiny a lanthanoidů v roztoku na XV. Mezinárodní konferenci koordinační chemie (ICCC) v Moskvě (1973).

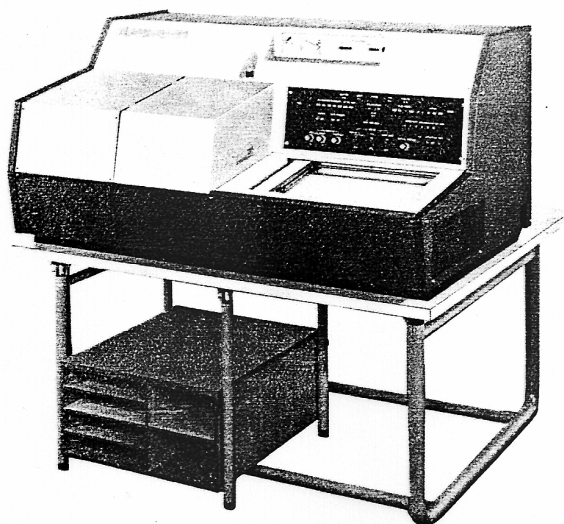
Koncem 60. let se na katedře organické chemie infračervené spektroskopie ujal S. Hilgard. Přes moje negativní stanovisko, aby se vedení tamní katedry zaměřilo na modernější přístroj, přibyl, bohužel, na organice počátkem

70. let další UR 20! Tehdy jsem měl ve výhledu laserový Ramanův spektrometr, původně americký, ale otálením vyšších míst a poklesem kurzu koruny vůči dolaru se v naší laboratoři v r. 1973 objevil japonský laserový Ramanův spektrofotometr JRS-S1 JEOL (obr. 4) s výkonným argonovým iontovým laserem (Coherent Radiation) a automatickým měřením depolarizačního faktoru, v té době přístroj na úrovni. Naše experimentální možnosti se nebývale rozšířily, bylo možno měřit pevné, kapalné i plynné vzorky za vyšších i nižších teplot, v rotujících kyvetách teplotně nestálé a na laserové záření citlivé látky. Jako budící čáry  $\text{Ar}^+$  sloužily zejména vlnové délky 488 a 514,5 nm.

O digitálních polarizačních měřeních Ramanových spekter nitrato-ligandu bylo referováno např. v Belgii na sympoziu Solute-Solute and Solvent Interactions (1974) nebo na 1. všesvazové konferenci o Ramanových spektrech v Kyjevě (1975). Pokračovali jsme mimo jiné ve studiu vibračních spekter amidosíranových komplexů lanthanoidů, přechodných kovů a halogenosulfamato-komplexů. Dále byla studována spektra hexaoxotellurové kyseliny v pevných fázích a roztocích, biologických molekul včetně rezonančního Ramanova efektu<sup>4,5</sup>, acetylacetonátových komplexů<sup>6–8</sup> a pestrá paleta dalších látek. Velkému zájmu ve světě se těšil článek o Ramanově spektroskopii v biologii<sup>9</sup>, byť byl psán v češtině.

V r. 1982 jsme získali infračervený spektrofotometr Perkin-Elmer PE 684 s data stanicí (mikroprocesor Motorola 6800), systémem „Ratio Recording“, rozsahem  $200\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ . Byl to první přístroj s přímým digitálním zpracováním dat („on line“) v republice. Na jeho intelektuálním využití se nemalou měrou podíleli J. Pecka a S. Hilgard z katedry organické chemie.

Náš přístrojový park a zkoumaná problematika se podílely významně na výuce. Vedle již zmiňované před-



Obr. 4. Laserový Ramanův spektrometr JRS – S1, JEOL, Japonsko

nášky M. Horáka s dominujícími charakteristickými frekvencemi jsem na anorganické chemii v druhé půlce 60. let zahájil semestrální přednáškou o vibračních a rotačních projevech polyatomických částic a základech Ramanovy a infračervené spektroskopie, doplněné praktickým cvičením, nejprve měřením Ramanových, poté i infračervených spekter včetně interpretací látek v pevném, kapalném i plynném stavu, depolarizačního faktoru, izotopového složení, výpočtu tuhého rotoru z rotačně-vibračních spekter.

Přednáška je doposud součástí studijního programu posluchačů anorganické chemie. V jisté době absolvovali z infračervené a Ramanovy spektroskopie krátké semináře a demonstrační exkurze posluchači analytické chemie, geochemie a ochrany životního prostředí (pod patronací doc. I. Němcové a prof. Doležala). Na organické chemii výuku v oboru po M. Horákovi plně převzal S. Hilgard.

V 70. letech jsme ve spolupráci s Československou spektroskopickou společností začali organizovat postgraduální kurzy, nejprve zaměřené na metodiky měření vibračních spekter, později i jejich interpretace. Již v polovině 80. let bylo tehdy ve spolupráci s firmou Perkin-Elmer zařazeno měření na spektrometru s Fourierovou transformací (FTIR). Tyto postgraduální kurzy, průběžně inovované, pokračují úspěšně každoročně dodnes pod záštitou Spektroskopické společnosti Jana Marka Marci a učitelé z Albertova hrají na nich významnou roli.

V české literatuře o vibrační spektroskopii jsem se podílel na monografii „Infračervená spektra a struktura molekul“<sup>10</sup> kapitolami o boranech, halogenidech a anorganických kyslíkatých aniontech. Do „Nových směrů analytické chemie“ v edici J. Zýky jsem přispěl kapitolami „Možnosti laserové Ramanovy spektroskopie“<sup>11</sup> a „Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací“<sup>12</sup>, jež byly vydány též ve Spojeném království<sup>13</sup>.

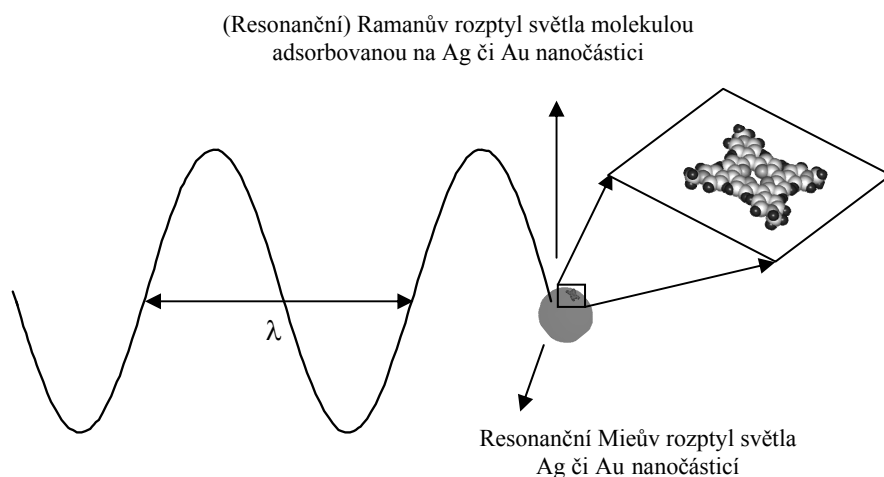
*Na rozvoji vibrační spektroskopie se na našem pracovišti podílela celá plejáda mých diplomantů a doktorandů, zejména V. E. Bondybey, H. Černá, I. Hladík, M. Semler, J. Kubizňák, I. Veverka, B. Vlčková, J. Pásztor, A. Krchová, R. Born a spolupracovník J. Šilha.*

## 2. Spektroskopie povrchem zesíleného Ramanova rozptylu

### 2.1. Princip povrchem zesíleného Ramanova rozptylu

Jev zvaný povrchem zesílený Ramanův rozptyl (Surface-enhanced Raman scattering, SERS) má původ v současné interakci viditelného záření s nanostrukturami plasmonických kovů, např. s Ag či Au nanočásticemi, a s molekulami lokalizovanými na jejich površích. V tomto systému je jak dopadající záření, tak i záření neelasticky rozptýlené molekulami zesíleno prostřednictvím rezonančního Mieova rozptylu tohoto záření nanočásticí zmíněného kovu. Toto je ve stručnosti princip základního, tzv. elektromagnetického (EM) mechanismu SERS. Pokud vlnová délka záření ( $\lambda_{\text{exc}}$ ) splňuje současně i podmínku molekulární rezonance, pak mechanismus molekulární rezonance rovněž přispívá k celkovému zesílení Ramanova rozptylu (obr. 5).

Podívejme se nyní podrobněji na EM mechanismus. Dopadá-li na Ag či Au nanočástici o velikosti 5–200 nm záření o  $\lambda_{\text{exc}}$ , resp. frekvenci, která splňuje rezonanční podmínku Mieova rozptylu, pak vodivostní elektrony v částici se vynuceně rozkmitají s frekvencí shodnou s frekvencí dopadajícího záření. Vzniká tak oscilující di-



Obr. 5. Mechanismy povrchem zesíleného Ramanova rozptylu

pól, který následně vyzařuje záření, jehož intenzita je úměrná čtverci velikosti tohoto dipólu. Ta dosahuje maximální hodnoty právě při splnění rezonanční podmínky Mieova rozptylu. K tomu dojde pro systém izolovaných Ag nanočástic ve vodě (tedy pro jejich hydrosol) při  $\lambda_{\text{exc}} = 390$  nm, pro Au nanočástice při  $\lambda_{\text{exc}} = 520$  nm. V tomto případě tedy fungují zmíněné nanočástice jako optické zesilovače.

Rezonanční excitaci zmíněného oscilujícího dipólu je připisována kvazičástice nazvaná lokalizovaný dipolární povrchový plasmon – odtud označení plasmonické kovy a plasmonika. SERS spektroskopie tak v současné době reprezentuje spojení molekulové spektroskopie a oboru nanověd nazývaného plasmonika<sup>14,15</sup>.

Nejúčinnějšími zesilovači záření jsou takové soubory Ag či Au nanočástic, v nichž dochází k lokalizaci plasmonových excitací do objemů cca 1 nm<sup>3</sup>. Příkladem jsou diméry Ag nanočástic, v nichž zesílení Ramanova rozptylu molekul EM mechanismem dosahuje faktoru až 10<sup>11</sup>. Z dimérů a malých agregátů Ag nanočástic lze měřit SERS spektra na úrovni jedné molekuly<sup>14–18</sup>.

Mechanismus molekulární rezonance je označován buď jako SERRS (tj. povrchem zesílený rezonanční Ramanův rozptyl), nebo jako chemický mechanismus SERS. V prvním případě je molekulární rezonance dosaženo koincidencí  $\lambda_{\text{exc}}$  s vlnovou délkou excitace dovoleného elektronového přechodu v molekule, v druhém jde o koincidenci s vlnovou délkou excitace přenosu náboje mezi kovem a adsorbátem v povrchovém komplexu<sup>14,15,19</sup>.

SERS a SERRS spektroskopie představují v současné době rozvinuté spektroanalytické metody s řadou aplikací v chemické analýze, při studiu struktury a funkce biologicky významných molekul, v chemii povrchů a v dalších oblastech nanověd, zejména plasmoniky. Z hlediska základního výzkumu pak zůstávají velkou výzvou různé aspekty SERS a SERRS spektroskopie na úrovni jedné molekuly. Současným působením EM a molekulárně rezonančního mechanismu SERS lze totiž v současné době dosáhnout zesílení Ramanova rozptylu faktorem až 10<sup>14</sup> (cit.<sup>14–19</sup>).

## 2.2. Studovaná témata

Společně s mým prvním diplomantem Pavlem Matějkou jsme zahájili výzkum na poli SERS spektroskopie v r. 1988. V té době již byly zformulovány principy obou mechanismů SERS (cit.<sup>20,21</sup>), nicméně stále byly vedeny bouřlivé diskuse o jejich poměrném příspěvku k tomuto procesu. Naším prvním úspěšným SERS experimentem bylo změření SERS spektra 2,2'-bipyridylu (bpy) v systému s Ag koloidem (správněji hydrosolem Ag nanočástic). Bpy se ukázal být vděčným adsorbátem a provázal nás po 20 let výzkumu SERS: nejprve jako studovaný adsorbát, později jako SERS spektrální sonda a rovněž jako ligand v komplexech s Ru(II) (cit.<sup>22–24</sup>). Nakonec se nám skutečně podařilo objasnit, proč SERS spektra bpy adsorbovaného na chloridy-modifikovaných Ag nanočásti-

cích excitovaná zářením o  $\lambda_{\text{exc}} = 514,5$  nm jsou zcela shodná se SERRS spektry [Ru(bpy)<sub>3</sub>]<sup>2+</sup> měřenými s  $\lambda_{\text{exc}} = 457,9$  nm. Identifikovali jsme totiž povrchový komplex Ag(0)-bpy, v němž dochází k fotoindukovanému přenosu náboje (CT) z Ag do  $\pi^*$  orbitalu bpy, obdobně jak je tomu v případě CT Ru(II) → bpy( $\pi^*$ ) v komplexu [Ru(bpy)<sub>3</sub>]<sup>2+</sup>. Podařilo se nám tak prokázat působení chemického mechanismu SERS v součinnosti s EM mechanismem v systému s Ag nanočásticemi<sup>22,23</sup>.

Další třídou sloučenin, které nás zaujaly, tentokrát z hlediska mechanismů a aplikací SERS spektroskopie, byly a jsou porfyriny. V našem výzkumu představují porfyriny detegované analyty, prostředníky cíleného uspořádání Ag či Au nanočástic do souborů s požadovanou morfologií (např. dvourozměrných, hexagonálně uspořádaných nanočásticových filmů či dimérů a malých agregátů) a konečně nově vyvíjené SERS spektrální sondy<sup>25–31</sup>.

Významný podíl na tom, že se náš výzkum na poli SERS spektroskopie celkem úspěšně rozvíjel, mají především studenti, doktorandi i diplomanti, kteří v mé skupině působili či působí. Někteří z nich jsou nyní mými spolupracovníky v naší skupině, s některými spolupracujeme externě. Neméně významnou úlohu měly a mají naše spolupráce s kolegy na pracovištích v rámci ČR i v zahraničí.

Závěrem uvádím stručný přehled tematik řešených v naší skupině:

*Vývoj molekulárních spacerů pro detekci nativních forem biologicky a medicínsky významných analytů.* Úkolem spaceru je navázat detegovaný analyt k povrchu Ag či Au nanočástic bez porušení jeho nativní struktury. Největší pozornost jsme věnovali vývoji spacerů pro porfyrinové báze, u nichž při přímé adsorpci na povrch Ag nanočástic dochází k nežádoucí metalaci<sup>26,27</sup>.

*Uspořádání Ag a Au nanočástic do souborů s požadovanou morfologií:*

a) v případě 2-dimensionálních uspořádaných souborů vznikajících prostřednictvím monomerních adsorbátů nás zajímala především jejich vnitřní struktura a mechanismus vzniku. K jejich objasnění jsme využili spojení SERS a UV-Vis spektroskopie s elektronovou mikroskopií<sup>28,29</sup>.

b) v případě nanokompozitů Ag a Au nanočástic s polymery studujeme vliv polymerního charakteru adsorbátu na uspořádání nanočástic a na působení mechanismu SERS a SERRS v těchto souborech<sup>32</sup>.

*SERS a SERRS na úrovni jedné molekuly.* Naším nejzajímavějším výsledkem je experimentální realizace nejučinnějšího zesilovače záření, tj. diméru Ag nanočástic spojeného molekulární spojkou, a SERS spektrální sledování dynamického chování této spojky v jediném vybraném diméru<sup>33</sup>.

*Vývoj SERS spektrálních sond.* SERS spektrálních sond jsme využili např. ke studiu mechanismů laserové ablace Ag a Au terčů spojené s fragmentací vzniklých nanočástic<sup>24,30</sup> a k testování funkcionalizace Ag nanočástic v průběhu laserové ablace v chemicky modifikovaných prostředích<sup>31</sup>. V současné době testujeme vhodné sloučení-

ny, např. polypyridinové komplexy Ru(II), jako sondy pro detailní studium mechanismů SERRS a povrchem modifikované luminiscence.

*Poděkování patří všem studentům, kteří působili či působí v naší skupině: prof. P. Matějka, Mgr. J. Šimonová, Dr. K. Solecká-Čermáková, doc. M. Procházka, Dr. O. Šesták, Dr. I. Šloufová-Srnová, Dr. M. Michl, Dr. P. Šmejkal, Dr. K. Šišková, Mgr. M. Sládková, Mgr. L. Grohsová-Maršálková, Dr. Ondřej Dammer, Bc. M. Dvořáková, Bc. M. Kokošková, Bc. D. Spáčil. Na odborném vedení některých z nich se společně se mnou podíleli či podílejí: prof. J. Štěpánek, Dr. J. Pflieger, prof. P.-Y. Turpin, prof. P. Pančoška, doc. P. Mojžeš a doc. M. Procházka. Společně s mými současnými kolegy Dr. P. Šmejkalem a Dr. I. Šloufovou děkujeme za spolupráci prof. J. Štěpánkovi, prof. V. Baumrukovi, doc. P. Mojžešovi, doc. M. Procházce v Oddělení fyziky biomolekul Fyzikálního ústavu MFF, Dr. M. Šloufovi a jeho výzkumné skupině (jmenovitě pí J. Hromádkové a dřívějšímu vedoucímu skupiny Dr. F. Lednickému) a Dr. J. Pfliegerovi a jeho výzkumné skupině na ÚMCH AVČR, prof. J. Vohlídalovi a jeho skupině na KFMCH Přír. fak. UK v Praze a Dr. M. Michlovi a jeho skupině na FJFI ČVUT Praha. Dále děkujeme za spolupráci prof. M. Moskovitsovi, University of California at Santa Barbara, prof. D. J. Stufkensovi(†), Universiteit van Amsterdam, prof. I.S. Butlerovi, Mc Gill University Montreal prof. P.-Y. Turpinovi, Université Paris VI a členům jejich výzkumných skupin. Rovněž děkuji svým učitelům, doc. B. Strauchovi a doc. M. Horákovi(†). Naše poděkování za finanční podporu výzkumu patří GAČR, MŠMT, GAUK, AVČR a FRVŠ.*

### 3. Spektroskopie krystalických materiálů s vodíkovými vazbami

#### 3.1. Obecné aspekty vodíkové vazby

Vodíková vazba je unikátní fenomén, který hraje zásadní roli nejen ve fyzice, strukturní chemii a krystalovém inženýrství (tj. oblastech úzce souvisejících s námi studovanou tematikou), ale v neposlední řadě také v supramolekulární chemii, farmacii a biologii. Nezastupitelnost vodíkové vazby vychází především z její schopnosti, založené na dostatečné síle a směrovosti, ovlivňovat a řídit uspořádání molekulárních jednotek.

Vodíkové vazby patří mezi klíčové intermolekulární interakce<sup>34</sup> používané na poli krystalového inženýrství, vědního oboru, jehož základním úkolem je příprava krystalického materiálu s požadovanými vlastnostmi. Tyto interakce lze totiž s úspěchem využít<sup>35</sup> jako nástroje do značné míry umožňujícího topologickou kontrolu krystalové formy, a tím i kontrolu takových zásadních fyzikálních vlastností, jako jsou optické vlastnosti, termální stabilita, rozpustnost, barva, vodivost, tvar krystalů a mechanická odolnost. Zmíněnou problematikou využití vodíkových

vazeb v molekulovém designu a krystalovém inženýrství se zabývá řada autorů<sup>34–37</sup>.

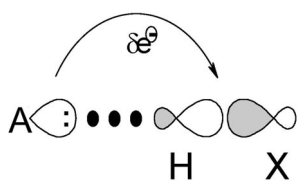
Existuje řada definic vodíkové vazby, tj. interakce X-H...A (X – donor vodíkového atomu, A – akceptor vodíkového atomu), které byly vytvořeny od počátku 20. století, kdy se vědecká veřejnost o tuto interakci začala hlouběji zajímat. První moderní, obecně platná definice však pochází až z 60. let minulého století. Pimentel a McClellan<sup>38</sup> v ní definovali, že o vodíkové vazbě můžeme hovořit, jestliže: (a) existují důkazy o vazbě a (b) existují důkazy, že je tato vazba stéricky spojena s vodíkovým atomem vázaným k jinému atomu. Zpřesnění této obecné definice bylo provedeno Steinerem a Saengerem<sup>39</sup>, kteří považují za vodíkovou vazbu každou soudržnou interakci X-H...A, kde atom vodíku nese kladný a atom A záporný náboj (a to i jen parciální) a náboj na atomu X je více negativní než na vodíkovém atomu. Hlubší klasifikaci vodíkových vazeb je možné provádět podle řady kritérií, jakými jsou např. geometrické, energetické nebo termodynamické aspekty. Velmi užitečnou kategorizaci vodíkových vazeb prezentovali Desiraju a Steiner<sup>40</sup>, kteří je dělí do tří skupin: vazby velmi silné, silné a slabé. Příkladem velmi silných vodíkových vazeb jsou například interakce  $[F...H...F]^-$ ,  $[N...H...N]^+$  či P-OH...O=P; nejrozšířenější skupinu silných vodíkových vazeb reprezentují interakce O-H...O=C, N-H...O=C a O-H...O-H; mezi slabé vodíkové vazby patří např. interakce C-H...O, C-H...π a C-H...N.

#### 3.2. Vodíková vazba z pohledu vibrační spektroskopie

Při studiu molekulárních a krystalických systémů s vodíkovými vazbami je využívána celá paleta experimentálních a teoretických metod<sup>40,41</sup>. Ačkoliv je velmi obtížné vytvořit jakékoliv pořadí „užitečnosti“ jednotlivých metod, je zcela bez diskuse, že přední místa v tomto pořadí patří metodám vibrační spektroskopie, a proto je základním aspektům zmíněné problematiky věnován i tento text.

Při vzniku všech vodíkových vazeb, které je možné popsat modifikovaným schématem X-H...A-Y, dochází k přesunu elektronové hustoty. V případě velmi silných a silných vodíkových vazeb (běžně se o nich také hovoří jako o standardních či klasických vodíkových vazbách) se předpokládá<sup>42</sup>, že dominantní část elektronové hustoty je přesouvána z volných elektronových párů nebo oblastí s π elektrony do  $\sigma^*$  protivazebního orbitalu vazby X-H. Vzrůst elektronové hustoty v tomto protivazebním orbitalu vede k zeslabování vazby X-H, a tím i k jejímu prodloužení (viz obr. 6).

Vznik diskutovaných vodíkových vazeb je provázen charakteristickými vibračními projevy, které lze pozorovat jak ve středním, tak ve vzdáleném, ale i v blízkém infračerveném oblasti. Z hlediska jejich podstaty jsou klasifikovány např. dle Marechala<sup>41</sup> jako vibrace intramonomerní (tj. především vibrace skupin X-H, ale i A-Y) a intermonomerní (tj. valenční a deformační vibrace celého „komplexu“ X-H...A).



Obr. 6. Schéma přenosu elektronové hustoty při vzniku silné vodíkové vazby (upraveno podle cit.<sup>50</sup>)

Většina spektroskopických studií vodíkových vazeb je směřována do střední IR oblasti, tj. oblasti vykazující projevy intramonomerních vibrací. Charakteristické efekty ve vibračních spektrech spojené se vznikem klasické vodíkové vazby X-H...A poprvé komplexně shrnuli Pimentel a McClellan<sup>38</sup> jako: (a) posun pásu valenční X-H vibrace k nižším vlnočtům; (b) vzrůst pološířky tohoto posunutého pásu; (c) vzrůst intenzity pásu valenční X-H vibrace v IR spektru, ale ne v Ramanově spektru; (d) posun pásu deformační X-H vibrace k vyšším vlnočtům s malými změnami v pološířce či intenzitě.

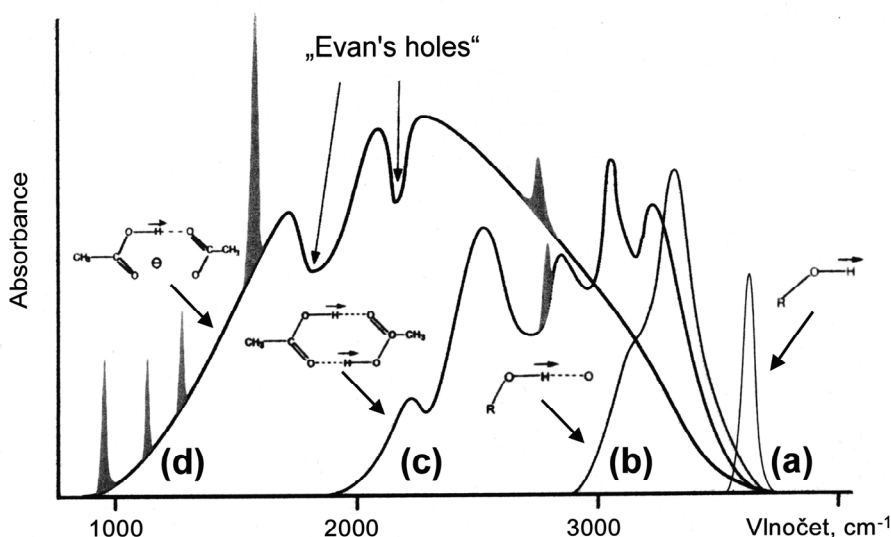
Posun pásu valenční X-H vibrace k nižším vlnočtům je sice poněkud méně okázalý než vzrůst integrální intenzity, je to však obecná vlastnost klasických vodíkových vazeb, která může být snadno měřitelná a diskutovatelná. Poloha tohoto pásu se tak stala často používaným spektroskopickým výstupem, který je především korelován s délkou vodíkových vazeb<sup>43,44</sup>. Další charakteristickou změnou spojenou se vznikem vodíkové vazby je značné rozšíření pásu valenční X-H vibrace. Obr. 7 demonstruje tento jev pro interakce typu O-H...O na několika reprezentativních příkladech alkoholů a karboxylových

kyselin. Zvláštní pozornost si především zaslouží projevy silných vodíkových vazeb u kyselých solí karboxylových kyselin, kde je kromě největšího červeného posunu patrné enormní rozšíření diskutovaného pásu a existence subminim, která jsou označována jako „Evan's holes“, případně jako „transmisní okna“, a jsou výsledkem Fermiho rezonance s overtone deformačních C-O-H vibrací.

Rozšíření pásu valenčních X-H(...A) vibrací spolu s přítomností submaxim a subminim je možné v závislosti na skupenství studovaných systémů interpretovat<sup>41</sup> na základě celé řady efektů, které hrají v tomto procesu klíčovou roli.

Slabé vodíkové vazby, v čele s asi nejvíce studovanou interakcí C-H...O, jsou v posledních letech středem značného zájmu<sup>40,42,45,46</sup>. Tento zájem je spojen nejen s dlouho diskutovanými otázkami existence těchto interakcí, ale i s jejich vlivem na chemické a biologické procesy. Ukazuje se<sup>47,48</sup>, že kontakty typu C-H...O jsou nejen důležitou sekundární interakcí, ale často mají i dominantní roli v procesech molekulárního rozpoznávání a konformace, při stabilizaci inkluzních komplexů a dokonce i z hlediska aktivity biologických makromolekul.

Alternativním označením pro tyto vodíkové vazby je název „nepravé vodíkové vazby“ (případně „blue-shifting improper hydrogen bonds“)<sup>42</sup>, protože na rozdíl od klasických vodíkových vazeb u nich často dochází k vzrůstu frekvence valenční vibrace C-H při vzniku C-H...O interakce. Ačkoliv existuje celá řada prací věnovaných této interakcím, mechanismus zesílení C-H vazby díky C-H...O interakci je stále předmětem diskuse. Je možné konstatovat<sup>49</sup>, že v současnosti existují dva názorové směry vysvětlující fyzikální podstatu tohoto jevu<sup>42,45,46,50</sup>.



Obr. 7. Schématické změny tvaru pásu valenčních O-H vibrací při vzniku vodíkových vazeb typu O-H...O. Křivka (a) odpovídá situaci bez vodíkových vazeb (páry alkoholu), křivka (b) reprezentuje vznik slabší vodíkové vazby v kapalném alkoholu, křivka (c) reprezentuje vznik středně silných vazeb v dimérech karboxylových kyselin a křivka (d) odpovídá situaci při vzniku silné vodíkové vazby u kyselých solí karboxylových kyselin. Plně jsou zobrazeny vibrační pásy jiných funkčních skupin (upraveno podle cit.<sup>41</sup>)



Vibrační chování C-H vazeb plynoucí z existence C-H...O interakcí je velmi zajímavé i z pohledu hybridizace na atomu uhlíku. V případě C(sp)-H vazeb jsou vibrační projevy spojené se vznikem vodíkové vazby analogické jako u silných vodíkových vazeb – tj. dochází k červenému posunu pásu valenční C(sp)-H vibrace<sup>46,51</sup>. Vibrační chování skupin C(sp<sup>2</sup>)-H a C(sp<sup>3</sup>)-H je výrazně komplikovanější a je možné pozorovat celou škálu projevů<sup>46,48</sup>, od modrého posunu po slabý červený posun pásu valenční vibrace, bez zjevných trendů. Tento jev je vysvětlován<sup>40</sup> klesající aciditou (donorovou silou) C-H skupin v řadě C(sp) > C(sp<sup>2</sup>) > C(sp<sup>3</sup>).

Původně dominantní využití infračervené spektroskopie na poli analýzy C-H...O interakcí se postupně rozšiřuje i na kombinované studium s Ramanovou spektroskopií<sup>48</sup>, případně až na využití Ramanovy spektroskopie jako jediné spektrální metody<sup>52–54</sup>. Zvláště studují-li se přímé projevy valenčních C-H vibrací, nabízí Ramanova spektroskopie větší výrazně vyšší intenzitu a separaci vibračních pásů než komplementární technika infračervené spektroskopie.

### 3.3. Studované materiály

Konkrétní oblast, které je řadu let věnována pozornost na půdě katedry anorganické chemie PĚF UK Praha, je oblast cílené přípravy a detailního studia nových krystalických materiálů, v nichž se zásadním způsobem uplatňují vodíkové vazby. Tato vazebná interakce je nejen řídicím mechanismem při vzniku studovaných krystalů, ale má často i klíčovou roli z hlediska jejich fyzikálních vlastností. Fyzikálními vlastnostmi, které stojí v centru pozornosti našeho materiálového výzkumu, jsou feroelektrické vlastnosti, protonová vodivost a v současnosti především nelineární optické vlastnosti (generování druhé harmonické frekvence). Ačkoliv fyzikální princip zmiňovaných vlastností je v zásadě odlišný, jednotlivým prvkem je sama skupina připravených krystalických materiálů. Většinu zástupců této skupiny lze totiž obecně definovat jako soli či adukty (kokrystaly) organických dusíkatých sloučenin s anorganickými nebo organickými kyselinami. Kromě chemické a strukturální podobnosti je studovaná skupina zajímavá i tím, že u získaných materiálů se cílové fyzikální vlastnosti mohou často vyskytovat společně. Tyto vlastnosti jsou zajímavé nejen z pohledu základního výzkumu v oblasti korelování struktury a funkce materiálů, ale především díky velkému množství významných technických aplikací.

V naší skupině byla hlavní pozornost věnována následujícím skupinám materiálů:

Soli kyseliny selenové a seleničité – tyto materiály založené převážně na bázi kyselých solí alkalických kovů byly studovány<sup>55–59</sup> pro svůj potenciál v oblasti feroelektrik typu KDP (dihydrogenfosforečnanu draselného).

Sloučeniny aminokyselin s anorganickými oxokyselinami – hlavním cílem přípravy a charakterizace sloučenin v této skupině látek bylo rozšířit množinu potenciálních

feroelektrických materiálů s krátkými vodíkovými vazbami typu TGS – tj. síranu glycin bis(glycinia). Byly tak především studovány systémy příbuzných aminokyselin (L-alanin, β-alanin, L-valin, L-leucin) s vybranými anorganickými oxokyselinami<sup>60–66</sup>. Nicméně sloučeniny studovaných aminokyselin jsou zajímavé i z pohledu existence nelineárních optických vlastností<sup>66–69</sup>.

Soli nasycených aminů s anorganickými oxokyselinami – tato skupina látek byla a je studována především z důvodu hledání nových materiálů s potenciálním uplatněním na poli protonových vodičů. Byly připraveny a charakterizovány soli alifatických a cyklických (piperazin, dimethylpiperazin) diaminů s oxokyselinami selenu<sup>70–74</sup>.

Sloučeniny nenasycených aminů s anorganickými a organickými kyselinami – první podmožinou skupiny materiálů, které jsou připravovány se zaměřením na hledání nových krystalů vykazujících nelineární optické vlastnosti, jsou sloučeniny aminotriazolů s dikarboxylovými kyselinami<sup>75,76</sup>. Druhou podmožinou jsou soli „Y-aromatických“ dusíkatých bází, jakými jsou deriváty guanidinu (např. aminoguanidin, biguanid či guanylurea). V této skupině byly připraveny a studovány soli<sup>77–81</sup> jak anorganických, tak i organických kyselin, které kromě generování druhé harmonické frekvence v jednom případě vykazují i protonovou vodivost<sup>82</sup>.

Metody vibrační spektroskopie jsou využívány, kromě charakterizace připravených materiálů za laboratorní teploty (v součinnosti s RTG strukturální analýzou), také ke studiu teplotního chování materiálů (od cca 90 K do teploty tání krystalů) s ohledem na případné fázové přechody. Díky detailnímu přiřazení spekter těchto krystalických látek je také možné využít závěrů vibrační spektroskopie pro diskusi mechanismů pozorovaných fázových přechodů<sup>63,64,77</sup>.

*Na tomto místě bych chtěl poděkovat všem zúčastněným spolupracovníkům a studentům katedry anorganické chemie PĚF UK v Praze, spolupracovníkům z MFF UK v Praze a Fyzikálního ústavu v.v.i. AV ČR, bez nichž by výše zmiňované výsledky nemohly vzniknout. V neposlední řadě je také třeba zdůraznit finanční podporu MŠMT, FR-VŠ a grantových agentur ČR a UK v Praze.*

## 4. Závěr

Jak je patrné z uvedeného historického přehledu a dvou vybraných oblastí aktuálních výzkumných zaměření, metodám infračervené a Ramanovy spektroskopie se na chemické sekci Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze vždy dobře dařilo a stále daří. Naším současným cílem je tento trend nejen udržovat, ale také modernizovat a doplňovat naše přístrojové vybavení tak, abychom dále mohli rozšiřovat spektrum aplikací vibrační spektroskopie nejen v chemii, ale i ostatních přírodních vědách.

## LITERATURA

1. Strauch B., Komisarova L. N.: *Z. Chem.* 6, 474 (1966).
2. Strauch B., Komisarova L. N.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 32, 1484 (1967).
3. Drátovský M., Kožíšek V., Strauch B.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 36, 3810 (1971).
4. Anzenbacher P., Šípál Z., Chlumský J., Strauch B.: *Studia Biophysica* 78, 73 (1980).
5. Anzenbacher P., Šípál Z., Strauch B., Twardowski J., Proniewicz L. M.: *J. Am. Chem. Soc.* 103, 5928 (1981).
6. Vlčková B., Strauch B.: *Spectrochim. Acta* 38 B, Suppl. 348 (1983).
7. Vlčková B., Strauch B., Horák M.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 50, 306 (1985).
8. Vlčková B., Strauch B., Horák M.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 52, 686 (1987).
9. Anzenbacher P., Strauch B.: *Chem. Listy* 73, 496 (1979).
10. Horák M., Papoušek D., Moravec J., Řeřicha R., Strauch B., Štokr J.: *Infračervená spektra a struktura molekul*, Academia, Praha 1974.
11. Strauch B. v knize: *Nové směry v analytické chemii* (Zýka J., ed.), sv. III, str. 171. SNTL, Praha 1988.
12. Strauch B. v knize: *Nové směry v analytické chemii* (Zýka J., ed.), sv. IV, str. 52. SNTL, Praha 1988.
13. Zýka J. (ed.): *Instrumentation in Analytical Chemistry*, vol. 2. Ellis Horwood, London 1994.
14. Le Ru E. C., Etchegoin P. G.: *Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy and Related Plasmonic Effects*. Elsevier, Amsterdam 2009.
15. Aroca R.: *Surface-Enhanced Vibrational Spectroscopy*. J. Wiley, Chichester 2006.
16. Xu H., Aizpurua J., Käll M., Apell P.: *Phys. Rev., E* 62, 4318 (2000).
17. Johansson P., Xu H., Käll M.: *Phys. Rev., B* 72, 035427-1-17 (2005).
18. Moskovits M.: *J. Raman Spectr.* 36, 485 (2005).
19. Vlčková B., Pavel I., Sládková M., Šišková K., Šlouf M.: *J. Mol. Struct.* 834-836, 42 (2007).
20. Moskovits M.: *Rev. Mod. Phys.* 57, 783 (1985).
21. Moskovits M.: *J. Chem. Phys.* 69, 4159 (1978).
22. Srnová I., Vlčková B., Snoeck T. L., Stufkens D. J., Matějka P.: *Inorg. Chem.* 39, 3551 (2000).
23. Šloufová I., Šišková K., Vlčková B., Štěpánek J.: *Phys. Chem. Chem. Phys.* 10, 2233 (2008).
24. Šmejkal P., Šišková K., Vlčková B., Pflieger J., Šloufová I., Šlouf M., Mojžeš P.: *Spectrochim. Acta, Part A* 59, 2321 (2003).
25. Sládková M., Vlčková B., Mojžeš P., Šlouf M., Naudin C., Le Bourdon G.: *Faraday Discuss.* 132, 121 (2006).
26. Vlčková B., Matějka P., Šimonová J., Pančoška P., Čermáková K., Baumruk V.: *J. Phys. Chem.* 97, 9719 (1993).
27. Vlčková B., Šmejkal P., Michl M., Procházka M., Mojžeš P., Lednický, F., Pflieger J.: *J. Inorg. Biochem.* 79, 295 (2000).
28. Šloufová-Srnová I., Vlčková B.: *Nano Lett.* 2, 121 (2002).
29. Solecá-Čermáková K., Vlčková B., Lednický F.: *J. Phys. Chem.* 100, 4954 (1996).
30. Procházka M., Mojžeš P., Štěpánek J., Vlčková B., Turpin P.-Y.: *Anal. Chem.* 69, 5103 (1997).
31. Šišková K., Vlčková B., Turpin P.-Y., Thorel A., Grosjean A.: *Vibr. Spectr.* 112, 4436 (2008).
32. Dammer O., Vlčková B., Procházka M., Sedláček J., Vohlídal J., Pflieger J.: *Phys. Chem. Chem. Phys.* 11, 5455 (2009).
33. Vlčková B., Moskovits M., Pavel I., Šišková K., Sládková M., Šlouf, M.: *Chem. Phys. Lett.* 455, 131 (2008).
34. Holý P.: *Supramolekulární chemie 1*. ÚOCHAB AV ČR, Praha 2004.
35. Aakeröy C. B., Seddon K. R.: *Chem. Soc. Rev.* 22, 397 (1993).
36. Steiner T.: *Angew. Chem. Int. Ed.* 41, 48 (2002).
37. Etter M. C.: *J. Phys. Chem.* 95, 4601 (1991).
38. Pimentel G. C., McClellan A. L.: *The Hydrogen Bond*. Freeman & Co, San Francisco 1960.
39. Steiner T., Saenger W.: *J. Chem. Soc.* 115, 4540 (1993).
40. Desiraju G. R., Steiner T.: *The Weak Hydrogen Bond*. Oxford University Press, Oxford 1999.
41. Maréchal Y.: *The Hydrogen Bond and Water Molecule*. Elsevier, Amsterdam 2006.
42. Hobza P., Havlas Z.: *Z. Chem. Rev.* 100, 4253 (2000).
43. Novak A.: *Struct. Bonding* 18, 177 (1974).
44. Libowitzky E.: *Monatsh. Chem.* 130, 1047 (1999).
45. Gu Y. L., Kar T., Scheiner S.: *J. Am. Chem. Soc.* 121, 9411 (1999).
46. Masunov A., Dannenberg J. J., Contreras R. H.: *J. Phys. Chem., A* 105, 4737 (2001).
47. Steiner T.: *Cryst. Rev.* 9, 177 (2003).
48. Nolasco M. M., Ribeiro-Claro P. J. A.: *Chem. Phys. Chem.* 6, 496 (2005).
49. Qian W., Krimm S.: *J. Phys. Chem., A* 106, 6628 (2002).
50. Hobza P.: *Chem. Listy* 102, 884 (2008).
51. Steinwender E., Lutz E. T. G., van der Maas J. H., Kanters J. A.: *Vib. Spectrosc.* 4, 217 (1993).
52. Derollez P., Hernandez O., Hédoux A., Guinet Y., Masson O., Lefebvre J., Descamps M.: *J. Mol. Struct.* 694, 131 (2004).
53. Chang H. C., Jiang J. C., Lai W. W., Lin J. S., Chen G. C., Tsai W. C., Lin S. H.: *J. Phys. Chem., B* 109, 23103 (2005).
54. Chang H. C., Jiang J. C., Tsai W. C., Chen G. C., Chang C. Y., Lin S. H.: *Chem. Phys. Lett.* 432, 100 (2006).
55. Mička Z., Kratochvíl B., Podlahová J., Niinisto L.: *Coll. Czech. Chem. Commun.* 50, 1368 (1985).
56. Hiltunen L., Hölsä J., Mička Z.: *J. Solid State Chem.* 68, 307 (1987).

57. Mička Z., Daněk M., Loub J., Strauch B., Podlahová J., Hašek J.: *J. Solid State Chem.* 77, 306 (1988).
58. Mička Z., Němec I., Vojtíšek P., Ondráček J., Hölsä J.: *J. Solid State Chem.* 112, 237 (1994).
59. Mička Z., Němec I., Vojtíšek P., Ondráček J.: *J. Solid State Chem.* 122, 338 (1996).
60. Němec I., Císařová I., Mička Z.: *J. Solid State Chem.* 140, 71 (1998).
61. Němec I., Císařová I., Mička Z.: *J. Mol. Struct.* 476, 243 (1999).
62. Němec I., Gyepes R., Mička Z.: *J. Mol. Struct.* 476, 203 (1999).
63. Němec I., Císařová I., Mička Z.: *J. Solid State Chem.* 158, 1 (2001).
64. Němec I., Mička Z.: *J. Mol. Struct.* 563-564, 289 (2001).
65. Němec I., Mička Z.: *J. Mol. Struct.* 482-483, 23 (1999).
66. Němec I., Gyepes R., Mička Z., Trojáněk F.: *Mat. Res. Soc. Symp. Proc.* 725, 213 (2002).
67. Dhanuskodi S., Vasantha K., Angeli Mary P. A.: *Spectrochim. Acta, A* 66, 637 (2007).
68. Caroline M. L., Vasudevan S.: *Mater. Lett.* 62, 2245 (2008).
69. Kirubavathi K., Selvaraju K., Valluvan R., Vijayan N., Kumararaman S.: *Spectrochim. Acta, A* 69, 1283 (2008).
70. Chudoba V., Mička Z., Havlíček D., Císařová I., Němec I., Robinson W. T.: *J. Solid State Chem.* 170, 390 (2003).
71. Havlíček D., Chudoba V., Němec I., Císařová I., Mička Z.: *J. Mol. Struct.* 606, 101 (2002).
72. Havlíček D., Plocek J., Němec I., Gyepes R., Mička Z.: *J. Solid State Chem.* 150, 305 (2000).
73. Plocek J., Havlíček D., Němec I., Císařová I., Mička Z.: *J. Solid State Chem.* 170, 308 (2003).
74. Němec I., Chudoba V., Havlíček D., Císařová I., Mička Z.: *J. Solid State Chem.* 161, 312 (2001).
75. Matulková I., Němec I., Císařová I., Němec P., Mička Z.: *J. Mol. Struct.* 834-836, 328 (2007).
76. Matulková I., Němec I., K. Teubner, Němec P., Mička Z.: *J. Mol. Struct.* 873, 46 (2008).
77. Němec I., Macháčková Z., Teubner K., Císařová I., Vaněk P., Mička Z.: *J. Solid State Chem.* 177, 4655 (2004).
78. Macháčková Z., Němec I., Teubner K., Němec P., Vaněk P., Mička Z.: *J. Mol. Struct.* 832, 101 (2007).
79. Matulková I., Němec I., Císařová I., Němec P., Mička Z.: *J. Mol. Struct.* 886, 103 (2008).
80. Matulková I., Němec I., Císařová I., Němec P., Vaněk P.: *J. Mol. Struct.* 966, 23 (2010).
81. Fridrichová M., Němec I., Císařová I., Němec P.: *Cryst. Eng. Comm.* 12, 2054 (2010).
82. Večerka J.: *Bakalářská práce*. Katedra anorganické chemie, PĚF UK v Praze, Praha 2007.

**B. Strauch, B. Vlčková, and I. Němec** (*Department of Inorganic Chemistry and Department of Physical and Macromolecular Chemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague*): **Infrared and Raman Spectroscopy in Chemistry Departments of Faculty of Science at Charles University in Prague – from History to the Present**

The history of applications and development of the methods of infrared and Raman spectroscopy at chemistry departments of Faculty of Science, Charles University in Prague, are reviewed. Historical overview, from the late fifties of past century to the present, is completed with short reviews concerning two selected research fields, which are actually studied, i.e. Surface Enhanced Raman Spectroscopy and Spectroscopy of Hydrogen Bonded Crystalline Materials.

## STRUKTURNÍ ANALÝZA PEVNÝCH LÁTEK V CHEMICKÉ SEKCI PŘÍRODOVĚDECKÉ FAKULTY UNIVERZITY KARLOVY V PRAZE

IVANA CÍSAŘOVÁ, PETR ŠTĚPNIČKA  
a IVAN NĚMEC

Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra anorganické chemie, Hlavova 2030, 128 40 Praha 2  
cisarova@natur.cuni.cz

Došlo 17.9.10, přijato 25.10.10.

Klíčová slova: strukturní analýza, rentgenová difrakce, historie, katalýza, enantiosektivní allylová alkylace, krystalové inženýrství, vodíkové vazby, nelineárně optické materiály

### Obsah

1. Útržky z historie rentgenové laboratoře v budově chemických kateder – *Ivana Císařová*
2. Příklad aplikace strukturní analýzy v organokovové chemii a katalýze – *Petr Štěpnička*
3. Strukturní analýza v krystalovém inženýrství materiálů pro nelineární optiku – *Ivan Němec*

### 1. Útržky z historie rentgenové laboratoře v budově chemických kateder

Je zřejmé, že na rozdíl od mnohých jiných věcí, pracoviště je tím váženější, čím je starší. A tak jsme podnikli hluboký výzkum počátků zkoumání hmoty pomocí rentgenova záření v budově, která dnes patří chemické sekci Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze. A vskutku, oprávněně se tato metoda řadí k nejpřednějším, neboť v jejích počátcích stojí sám největší genius české vědy. Bohužel fundamentální, dosud neobjevené práce Cimrmanovy v této oblasti, zůstaly neobjeveny i nadále. Dochovala se pouze fotografie velikána (obr. 1), na níž spolu s Františkem Josefem I., jistě ne náhodou, otevírají budovu nynějších chemických kateder právě deset let po objevu paprsků X.

Járu Cimrmana je vidět v pozadí za mocnářem ve dveřích budovy. O předmětu, který drží v rukou, se vedou spory, převažujícím názorem je, že se jedná o první prototyp Cimrmanovy kyvadlové rentgenové lampy, z níž toliko dochovaný držák byl poté patentován jako metronom.

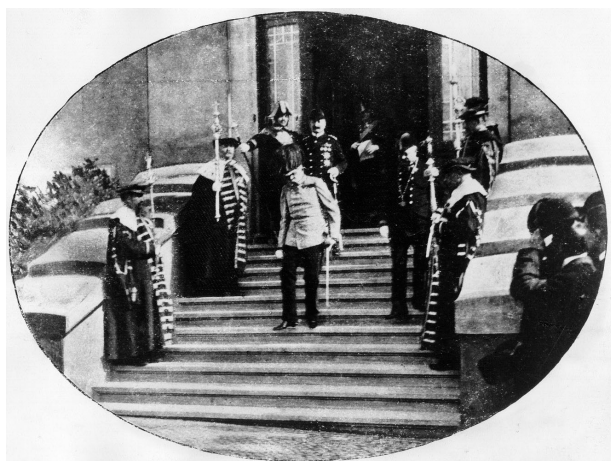
Slibný začátek, předbíhající začátky všech ostatních<sup>1</sup>, přerušila světová válka, a tak dokumentované rentgenové experimenty do budovy chemických kateder přicházejí až poté, co nacismus vyštval z Německa koncem třicátých let

českosobudějovického rodáka Jana Böhma. Profesor Böhma pracoval v oblasti rentgenové difrakce a spektrografie již od konce první světové války. Spolupracoval s Karlem Weissenbergem na konstrukci rentgenového goniometru a vybudoval rentgenovou laboratoř ve Freibergu. S jeho příchodem na Fyzikálně-chemický ústav Pražské německé university jsou pak spojovány první experimenty používající rentgenovo záření.

Z té doby se bohužel do současnosti také nic nedochovalo, rentgenový přístroj Siemens s Debyeovými-Scherrerovými komůrkami předválečné výroby byl zrušen v důsledku neočekávané návštěvy hygienika v roce 1959. Tím přišla laboratoř o jediný experimentální přístroj a je zásluhou profesora Josefa Louba, že to nebyl konec i celé laboratoře, nýbrž že se zde naopak obor rentgenové difrakce nadále rozvíjel.

Již tři roky po hygienické katastrofě bylo pracoviště vybaveno dvěma rentgenovými přístroji s komůrkami pro snímkování prášků a Weissenbergovým goniometrem. V témže roce začala spolupráce s Ústavem fyziky pevných látek ČSAV, zejména s dr. Alanem Línkem a Ing. Ctíradem Novákem. Díky ní získala laboratoř nejen další rentgenový zdroj s Weissenbergovým goniometrem z přebytků Ústavu fyziky pevných látek, především však místo, kam je možné se obrátit o radu, jak je tomu ostatně dodnes. Od roku 1962 byla na katedře zavedena rentgenostrukturní analýza jako obor výzkumu. První upřesněná struktura  $\text{Te}_2\text{SO}_7$  pak byla publikována v roce 1965 (cit.<sup>2</sup>). (Poznámka: Struktura hexabromotelluričitanu draselného stanovená o málo dříve byla prezentována pouze v rámci jednoho z odborných setkání).

Roku 1965 se rentgenová krystalochemie začala přednášet jako jednosemestrová přednáška a několik úloh se



Obr. 1. Panovník odchází z Českého chemického ústavu Na Slupi vyprovázen geniem české vědy J. Cimrmanem

stalo součástí kurzu pokročilých praktik. Vývoj pracoviště lze dokumentovat následujícími čísly: V letech 1962–1985 bylo zhotoveno 13 800 snímků nebo difraktogramů práškových vzorků a vyřešeno 26 struktur monokrystalů a to především pomocí měření na spřátelených čtyřkruhových difraktometrech ve Fyzikálním ústavu a Ústavu makromolekulární chemie Akademie věd. V té době se na katedře strukturální analýze věnovali tři vědečtí pracovníci, kromě dr. Louba i dr. Jana Podlahová a dr. Bohumil Kratochvíl a laborantka, paní Vlastimila Pitterová. V oboru byla vyškolená řada diplomantů, publikační činnost se zaměřovala především na oblast strukturální analýzy monokrystalů.

Tento stav trval v podstatě až do počátku 90. let minulého století, kdy se zásadním způsobem změnilo experimentální vybavení laboratoře. V roce 1989 byl zakoupen práškový difraktometr URD6 s generátorem IRIS a o čtyři roky později se profesoru Loubovi podařilo uspět se svým projektem u Grantové agentury ČR a v roce 1994 byl zakoupen čtyřkruhový difraktometr CAD4-MACHIII, umožňující změřit experimentální data pro jeden krystal v průměru během jednoho týdne. Potřeby chemického výzkumu na katedře a spolupracujících ústavech ale brzy vyčerpaly možnosti tohoto zařízení a v roce 2000 bylo proto vytvořeno, opět díky podpoře Grantové agentury ČR, metodické Centrum molekulových a krystalových struktur, jehož nejpodstatnější částí je difraktometr s CCD plošným detektorem, díky němuž se řádově zvětšil počet stanovovaných krystalových struktur na ca. 350 za rok. V roce 2009 pak byl nahrazen již zastaralý práškový difraktometr novým difraktometrem Philips XPertPRO.

Zaměřením pracoviště je strukturální analýza monokrystalů malých molekul, tedy látek od minerálů až po sloučeniny s několika sty nevodíkových atomů v základní buňce, přičemž největší podíl tvoří nově syntetizované látky v základním chemickém výzkumu. Jelikož hlavním cílem metodického centra bylo učinit strukturální stanovení snadno a rychle dostupným pro širokou vědeckou komunitu, jsou zde měřeny vzorky nejen z Přírodovědecké fakulty, ale i z celé řady spolupracujících univerzitních i akademických laboratoří. Práškové metody se používají v kvalitativní a kvantitativní fázové analýze a ve studiu reálné struktury vzorků z materiálového výzkumu.

Šířením významu strukturální analýzy naplňuje laboratoř geniální ideu svého věhlasného předchůdce, která je patrná z dochovaného útržku dopisu velikána Albertu Einsteinovi, v té době věnujícímu se studiu fotoefektu.

*Psáno v Praze, 18.2.1905*

*„... poté jsem upravil ohnisko kyvadlové lampy a získal kvanta záření. Mohl jsem tudíž konečně dosáhnout svého cíle nejvyššího a osvětlit jeho strukturu, neboť struktura, milý Alberte, jest v jádře všeho.“*

(Zbylé části dopisu jsou nenávratně ztraceny, a tak není známo, zda Cimrman určil strukturu fotonu nebo krystalu své oblíbené látky).

## 2. Příklad aplikace strukturální analýzy v organokovové chemii a katalýze

Význam a široké možnosti monokrystalové rentgenostrukturální analýzy lze demonstrovat i na příkladu studia synteticky významných organických reakcí katalyzovaných komplexy přechodných kovů. Je nutné si uvědomit, že vlastní katalytické částice jsou ve většině případů příliš reaktivní, než aby bylo možné je izolovat, krystalizovat a stanovit jejich strukturu pomocí difrakce rentgenového záření. Rentgenostrukturální analýza může nicméně přinést podstatné informace o složení katalytických prekurzorů (jako je kupříkladu stanovení koordinační geometrie a způsobu koordinace podpůrných ligandů) nebo o geometrickém uspořádání modelových sloučenin, které jsou předpokládány katalytickými intermediáty.

Obojí dokládají pokusy o vysvětlení katalytických výsledků dosažených v enantioselektivní allylové alkylaci 1,3-difenylallyl-acetátu dimethyl-malonátem (schéma 1) prováděné v přítomnosti palladiových katalyzátorů s chirálními ferrocenovými ligandy. Enantioselektivní allylová alkylace<sup>3–9</sup> je nukleofilní substitucí, jejíž obecně přijímaný reakční mechanismus (schéma 2) předpokládá vznik  $\eta^3$ -allylových komplexů z allylových substrátů. Ty jsou v dalším kroku atakovány nukleofilem a následně substituční produkt odstoupí z koordinační sféry kovu. Zdrojem chiralit v reakci je chirální ligand, který

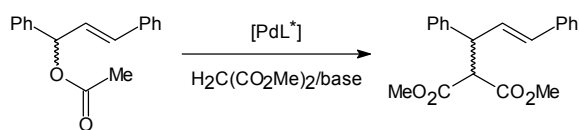


Schéma 1. Asymetrická allylová alkylace 1,3-difenylallyl-acetátu dimethyl-malonátem

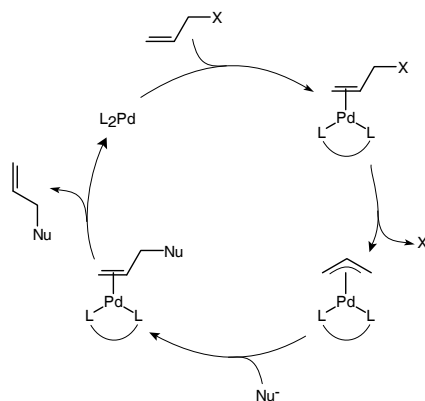


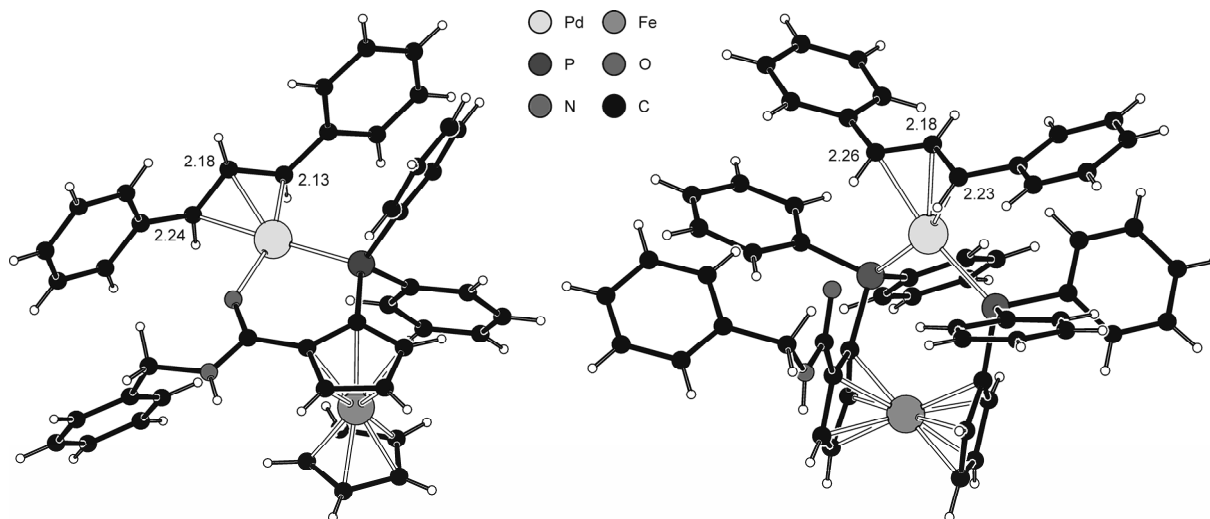
Schéma 2. Předpokládaný mechanismus allylové substituce (L–L = ligand, X = odstupující skupina, Nu = nukleofil)

(zjednodušeně vyjádřeno) rozlišuje terminální allylové uhlíky. Tyto uhlíky pak reagují s odlišnou rychlostí, což vede ke směsi obou enantiomerních produktů avšak s rozdílným zastoupením. Snahou je, aby toto zastoupení bylo co nejodlišnější od poměru 50:50, jenž odpovídá racemické směsi, v ideálním případě 100:0 (tj. jediný isomer). Z praktických důvodů se v této reakci běžně využívá katalyzátorů i nukleofilů generovaných *in situ* z vhodných stabilních prekurzorů (tj.  $[\text{PdCl}(\eta^3\text{-C}_3\text{H}_5)]_2$  + vhodný chirální ligand pro pre-katalyzátor a dimethyl-malonát + báze jako náhrada „definovaných“ solí s aniontem  $\text{CH}(\text{CO}_2\text{Me})_2^-$ ).

Vzhledem k výše uvedenému se pro studium vlivu ligandů jeví výhodné připravit a strukturně charakterizovat komplexní kation  $[\text{Pd}(\eta^3\text{-Ph}_2\text{C}_3\text{H}_3)(\text{L-L})]^+$  ( $\text{Ph}_2\text{C}_3\text{H}_3 = 1,3\text{-difenylallyl}$ , L-L = chelatující ligand), který je předpokládaným reakčním intermediátem. Tyto ionty lze v podobě solí s vhodnými anionty získat poměrně snadno reakcí dimeru  $[\text{Pd}(\eta^3\text{-Ph}_2\text{C}_3\text{H}_3)\text{Cl}]_2$  s testovaným ligandem a následným odnětím chloridového iontu stříbrnou solí, které vede k chelataci (schéma 3). To se podařilo i v případě dvou strukturně příbuzných ferrocenových amidofosfinových ligandů studovaných na našem pracovišti (schéma 4)<sup>10,11</sup>. Získané látky byly izolovány v monokrystalické podobě vhodné pro rentgenostrukturní analýzu (obr. 2).



Schéma 3. Příprava kationtových ( $\eta^3\text{-allyl}$ )palladnatých komplexů



Obr. 2. Struktury kationtů v komplexech  $[\text{Pd}(\eta^3\text{-1,3-Ph}_3\text{C}_3\text{H}_3)(\text{Ia})]\text{ClO}_4 \cdot \text{Me}_2\text{CO}$  (vlevo) a  $[\text{Pd}(\eta^3\text{-1,3-Ph}_3\text{C}_3\text{H}_3)(\text{IIa})]\text{ClO}_4 \cdot 2 \text{CH}_3\text{CO}_2\text{Et}$  (vpravo) nakreslené programem PLATON<sup>12</sup>. Jednotlivé vzdálenosti Pd-C(allyl) (v Å) jsou uvedeny přímo v obrázku

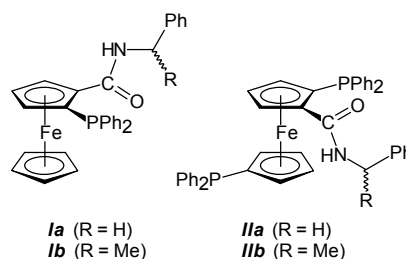


Schéma 4. Ligandy L-L testované v asymetrické allylové alky-laci 1,3-difenylallyl-acetátu dimethyl-malonátem

V případě komplexu  $[\text{Pd}(\eta^3\text{-1,3-Ph}_3\text{C}_3\text{H}_3)(\text{Ia})]\text{ClO}_4$  bylo zjištěno, že se ligand **Ia** váže jako O,P-chelatující donor prostřednictvím své fosfinové skupiny a amidovového kyslíku. V případě  $[\text{Pd}(\eta^3\text{-1,3-Ph}_3\text{C}_3\text{H}_3)(\text{IIa})]\text{ClO}_4$  se ferrocenový ligand rovněž koordinuje jako chelatující donor, avšak prostřednictvím obou svých fosfinových funkcí. Toto vysvětluje katalytické výsledky, které prokázaly, že ligandy typu **I** poskytují produkty s podstatně vyššími enantiomerními přebytky než ligandy typu **II**. Strukturní data dovolují najít důvodů hned několik. Zaprvé, donory **I** jsou schopny díky koordinaci dvou různých donorových atomů elektronicky diferencovat konce allylové skupiny, na kterých dochází k substituci. V případě ligandů **II** vznikají víceméně symetrické P,P-cheláty a elektronická diskriminace je tak jen minimální (to se projevuje v délkách vazeb Pd-C(allyl), viz obr. 2). Zadrugé, v případě ligandů **I** je koordinací doveden zdroj chiral-ity (rovina disubstituovaného cyklopentadienylového kruhu event. i chirální substituent v amidovém zbytku) do blízkosti kovu, na kterém reakce probíhá. V intermediátech vzniklých z ligandů **II** je kovové centrum od roviny chira-

lity i od amidové skupiny poměrně vzdálené a vliv substituentu v amidové části se tak omezí pouze na případné sterické bránění.

### 3. Strukturální analýza v krystalovém inženýrství materiálů pro nelineární optiku

Strukturální analýza je rovněž zcela zásadní metodou studia produktů krystalového inženýrství – oboru, jehož cílem je příprava krystalického materiálu s požadovanými vlastnostmi. Pro získání takového materiálu je kromě správné volby navržených molekulových stavebních bloků nezbytné hlouběji pochopit i jednotlivé interakce podílející se na vzniku krystalu. Intermolekulární interakce využívané na poli krystalového inženýrství lze na základě jejich typu rozdělit<sup>13</sup> do následujících skupin: (a) kovalentní vazby, (b) iontové vazby, (c) ion-dipól interakce, (d) dipól-dipól interakce, (e) kation- $\pi$  interakce, (f)  $\pi$ - $\pi$  interakce a (g) van der Waalovy síly. Jednotlivé interakce nalézají různé uplatnění v materiálové chemii a krystalovém inženýrství; obecně však můžeme konstatovat, že jedním z klíčových typů intermolekulárních interakcí jsou vodíkové vazby, které patří mezi interakce typu dipól-dipól.

Vodíkové vazby jsou totiž s úspěchem používány<sup>14–16</sup> jako efektivní nástroj topologické kontroly krystalové formy. Zásadním způsobem tak ovlivňují fyzikální vlastnosti získaných krystalů a některé aspekty jejich vlivu je možné diskutovat i s ohledem na existenci vybraných fyzikálních vlastností, v našem případě nelineárních optických (NLO) vlastností – generování druhé harmonické frekvence (SHG).

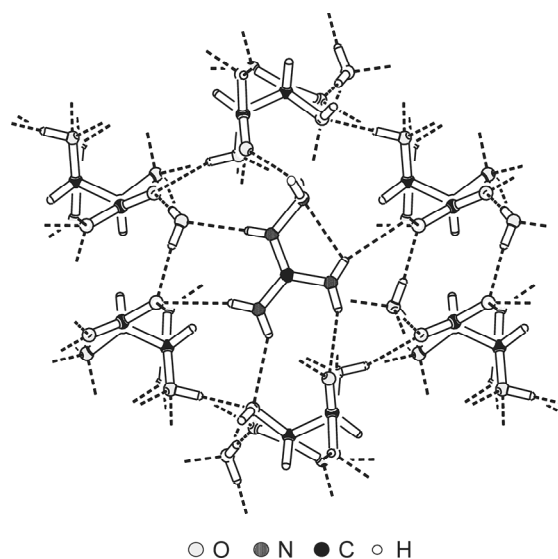
V centru našeho zájmu jsou konkrétně materiály vycházející z polarizovatelných organických molekul. V této oblasti krystalového inženýrství je především využita schopnost vodíkových vazeb vhodně orientovat organické molekuly a jejich kationty v krystalových strukturách, která umožňuje přípravu řady nových materiálů pro nelineární optiku<sup>17–21</sup>, jenž jsou v případě necentrosymetrického uspořádání perspektivní i pro SHG. Generování druhé harmonické frekvence patří mezi technicky velmi zajímavé<sup>22–24</sup> nelineární optické vlastnosti charakterizované polárním tenzorem 3. řádu. Tento typ NLO chování můžeme tedy očekávat pouze u sloučenin krystalizujících v prostorových grupách bez středu symetrie.

Zvláštní pozornost v diskutované skupině materiálů zasluhují soli organických molekul s anorganickými i organickými kyselinami. Organické polarizovatelné kationty jsou zde nositeli NLO vlastností a aniontová část sloučenin přispívá především k teplotní a optické odolnosti krystalů. V ideálním případě vodíkové vazby u těchto materiálů nejen zabraňují nevhodnému (nicméně přírodou preferovanému) centrosymetrickému uspořádání organických kationtů, ale i významně přispívají k celkové mřížkové energii krystalu<sup>15</sup> a v neposlední řadě také k jejich NLO vlastnostem<sup>25,26</sup>.

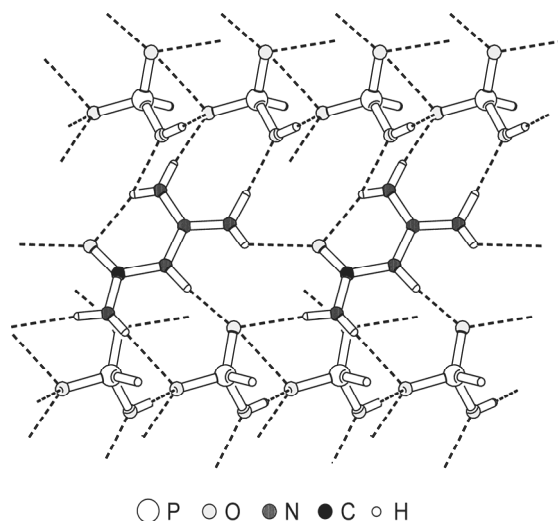
Výchozím krokem při přípravě nových sloučenin

v naší cílové skupině materiálů je výběr vhodné organické SHG aktivní molekuly. Ideálním nástrojem v tomto kroku jsou kvantově-chemické výpočty, které umožňují kvantifikaci jednotlivých složek tenzoru polarizability pro perspektivní molekuly a jejich kationty. V následujícím textu jsou diskutovány krystalové struktury čtyř charakteristických zástupců úspěšných produktů krystalového inženýrství ze dvou námi studovaných skupin materiálů pro SHG.

První skupinu tvoří soli derivátů guanidinu – tj. dusíkatých „Y-aromatických“ bází. Konkrétně byla v této skupině připravena a charakterizována řada solí<sup>27–32</sup> aminoguanidinu, biguanidu, fenylobiguanidu a guanylmočoviny



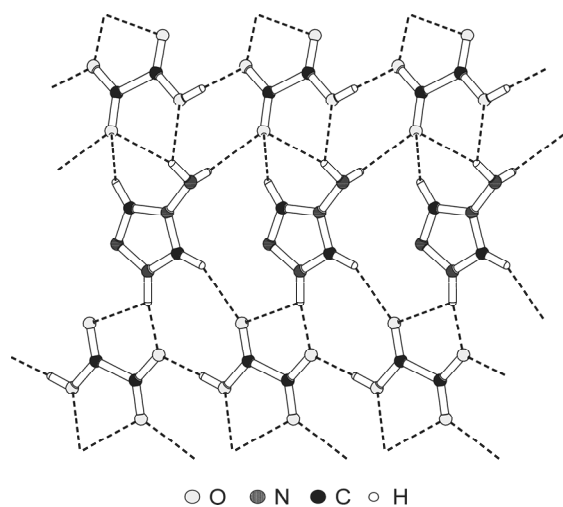
Obr. 3. Základní strukturální motiv monohydrátu hydrogen-L-tartrátu aminoguanidinia(1+) (prostorová grupa  $P2_12_12_1$ )



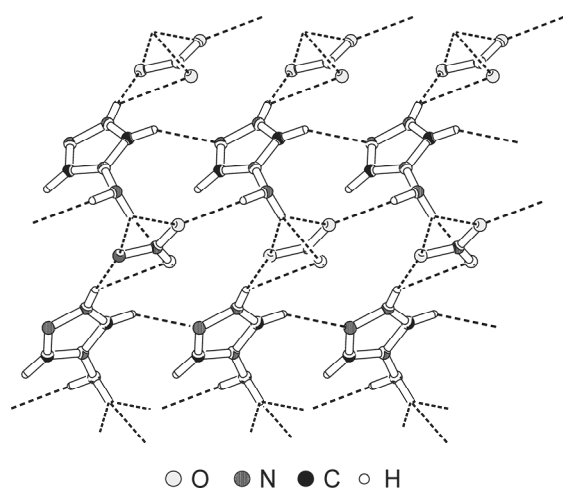
Obr. 4. Základní strukturální motiv hydrogenfosforitanu guanylmočoviny (prostorová grupa Cc)

s organickými i anorganickými kyselinami. Ilustrativním příkladem demonstrujícím využití chirálních dikarboxylových kyselin v krystalovém inženýrství je monohydrát hydrogen-L-tartrátu aminoguanidinia(1+) (cit.<sup>28</sup>), jehož krystalová struktura (viz obr. 3) vychází z 3-D sítě tvořené anionty a molekulami vody pomocí vodíkových vazeb typu O-H...O. Izolované kationty aminoguanidinia(1+) jsou vodíkovými vazbami typu N-H...O fixovány v kavitách této sítě.

V případě dalšího velmi perspektivního materiálu, kterým je hydrogenfosforitan guanylmočoviny<sup>31</sup>, bylo vhodné prostorové orientace planárních kationtů dosaženo (prostřednictvím vodíkových vazeb typu N-H...O) díky vzniku anorganických aniontových vrstev (tvořených hydrogenfosforitanovými řetězci s vodíkovými vazbami typu O-H...O) (viz obr. 4).



Obr. 5. Základní strukturální motiv hydrogenoxalátu 4-amino-1,2,4-triazolia(1+) (prostorová grupa  $P2_1$ )



Obr. 6. Základní strukturální motiv dusičnanu 4-amino-1,2,4-triazolia(1+) (prostorová grupa Cc)

Druhá skupina studovaných materiálů je odvozena od solí dusíkatých pěti- a šestičlenných heteroaromatických sloučenin, jakými jsou např. aminoderiváty triazolů<sup>32–34</sup> nebo pyrimidinu<sup>35</sup>. Úspěšným příkladem čistě organické soli z této skupiny je vrstevnatá struktura hydrogenoxalátu 4-amino-1,2,4-triazolia(1+) (cit.<sup>34</sup>). Jak je patrné z obr. 5, je tento materiál zajímavý i tím, že se na orientování jednotlivých kationtů mezi hydrogendikarboxylátovými řetězci podílejí kromě vodíkových vazeb typu N-H...O i slabé vazby typu C-H...O (cit.<sup>36</sup>).

Poslední uváděný příklad ilustruje skutečnost, že ne-centrosymetrického krystalového uspořádání lze dosáhnout i u solí s anorganickými anionty, jenž mohou být pouze akceptory vodíkových vazeb. Tímto příkladem je dusičnan 4-amino-1,2,4-triazolia(1+) (cit.<sup>32</sup>) kde izolované dusičnanové anionty vystupují jako akceptory vodíkových vazeb typu N-H...O (převážně vícestředových) (viz obr. 6). Vzájemná orientace kationtů je v této struktuře ovlivněna i slabými interakcemi typu C-H...N.

I přes značné pokroky krystalového inženýrství je však třeba závěrem zdůraznit, že k dosažení ideálně očekávaných výsledků by bylo nutné, kromě výběru molekulových stavebních bloků, ovlivňovat také všechny aspekty krystalizačního procesu a řídit i zapojení jednotlivých ne vazebných interakcí do formování krystalu. To je však stav, ke kterému je možno se i z objektivních důvodů pouze přiblížit, proto dosažení předpokládané struktury a vlastností krystalického materiálu není ani v současnosti snadno splnitelným cílem<sup>13</sup>. I významní autoři na tomto poli přiznávají<sup>15</sup>, že docílení navrženého krystalového uspořádání je často věcí šťastné shody okolností.

## LITERATURA

- Kratochvíl B., Hušák M., Brynda J., Sedláček J.: Chem. Listy 102, 889 (2008).
- Loub J., Hubková H.: Z. Chem. 5, 241 (1965).
- Trost B. M., Van Vranken D. L.: Chem. Rev. 96, 395 (1996).
- Trost B. M., Crawley M. L.: Chem. Rev. 103, 2921 (2003).
- Hayashi T., v knize: *Catalytic Asymmetric Synthesis* (Ojima I., ed.), kapitola 7.1, str. 325. VCH, New York 1993.
- Graening T., Schmalz H.-G.: Angew. Chem. Int. Ed. 42, 2580 (2003).
- Helmchen G.: J. Organomet. Chem. 576, 203 (1999).
- Consiglio G., Waymouth R. M.: Chem. Rev. 89, 257 (1989).
- Hayashi T., v knize: *Ferrocenes: Homogeneous Catalysis, Organic Synthesis, Materials Science* (Togni A., Hayashi T., ed.), kapitola 2, str. 105. VCH, Weinheim 1995.
- Lamač M., Tauchman J., Císařová I., Štěpnička P.: Organometallics 26, 5042 (2007).
- Lamač M., Císařová I., Štěpnička P.: New J. Chem. 33, 1549 (2009).



12. Spek A. L.: *J. Appl. Crystallogr.* 36, 7 (2003).
13. Holý P.: *Supramolekulární chemie 1*. ÚOCHB AV ČR, Praha 2004.
14. Steiner T.: *Angew. Chem. Int. Ed.* 41, 48 (2002).
15. Aakeröy C. B., Seddon K. R.: *Chem. Soc. Rev.* 22, 397 (1993).
16. Etter M. C.: *J. Phys. Chem.* 95, 4601 (1991).
17. Aakeröy C. B., Nieuwenhuyzen M.: *J. Am. Chem. Soc.* 116, 10983 (1994).
18. Frankenbach G. M., Etter M. C.: *Chem. Matter.* 4, 272 (1997).
19. Aakeröy C. B., Hitchcock P. B., Moyle B. D., Seddon K. R.: *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 23, 1856 (1989).
20. Zyss J.: *Nonlinear Opt.* 1, 3 (1991).
21. Masse R., Durif A.: *Z. Kristallogr.* 190, 141 (1990).
22. Parasad P. N., Williams D. J.: *Introduction to Nonlinear Optical Effects in Molecules and Polymers*. J. Wiley, New York 1991.
23. Nalwa H. S., Miyata S. (ed.): *Nonlinear Optics of Organic Molecules and Polymers*. CRC Press, Boca Raton 1997.
24. Marder S. R., Kippelen B., Jen A. K. Y., Peyghambarian N.: *Nature* 388, 845 (1997).
25. Xue D., Zhang S.: *J. Phys. Solids* 57, 1321 (1996).
26. Xue D., Zhang S.: *J. Phys. Chem., A* 101, 5547 (1997).
27. Němec I., Macháčková Z., Teubner K., Císařová I., Vaněk P., Mička Z.: *J. Solid State Chem.* 177, 4655 (2004).
28. Macháčková Z., Němec I., Teubner K., Němec P., Vaněk P., Mička Z.: *J. Mol. Struct.* 832, 101 (2007).
29. Matulková I., Němec I., Císařová I., Němec P., Mička Z.: *J. Mol. Struct.* 886, 103 (2008).
30. Matulková I., Němec I., Císařová I., Němec P., Vaněk P.: *J. Mol. Struct.* 966, 23 (2010).
31. Fridrichová M., Němec I., Císařová I., Němec P.: *CrystEngComm* 12, 2054 (2010).
32. Matulková I.: *Disertační práce*. Katedra anorganické chemie, PŘF UK v Praze, Praha 2007.
33. Matulková I., Němec I., Císařová I., Němec P., Mička Z.: *J. Mol. Struct.* 834–836, 328 (2007).
34. Matulková I., Němec I., Teubner K., Němec P., Mička Z.: *J. Mol. Struct.* 873, 46 (2008).
35. Kodrlová L.: *Diplomová práce*. Katedra anorganické chemie, PŘF UK v Praze, Praha 2007.
36. Němec I.: *Habilitační práce*. PŘF UK v Praze, Praha 2008.

**I. Císařová, P. Štěpnička, and I. Němec**  
(*Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague*): **Structure Analysis of Solid Materials at Chemistry Departments of Faculty of Science of Charles University in Prague**

This contribution summarizes the history and development of X-ray diffraction analysis of solids in the above mentioned institution. Examples of recent applications of X-ray diffraction analysis as a tool for structure characterisation of intermediates in enantioselective metal-catalysed reactions and in studies of crystalline materials for non-linear-optics applications are also presented.

## HISTORIE, SOUČASNOST A PERSPEKTIVY ANALYTICKÝCH SEPARAČNÍCH METOD NA KATEDŘE ANALYTICKÉ CHEMIE PŘÍRODOVĚDECKÉ FAKULTY UNIVERZITY KARLOVY V PRAZE

JANA SOBOTNÍKOVÁ, ZUZANA BOSÁKOVÁ,  
RADOMÍR ČABALA, PAVEL COUFAL, VĚRA  
PACÁKOVÁ a KAREL ŠTULÍK

Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra analytické chemie, Albertov 2030, 128 40 Praha 2, <http://www.natur.cuni.cz/chemie/analchem/o-katedre>; [suchan@natur.cuni.cz](mailto:suchan@natur.cuni.cz)

Došlo 5.8.10, přijato 8.9.10.

Klíčová slova: separační metody, analytická chemie, separační potenciál, aplikační možnosti

### Obsah

1. Úvod
2. Historie a současnost separačních metod na Katedře analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze
  - 2.1. Plynová chromatografie
  - 2.2. Kapalinová chromatografie
  - 2.3. Elektromigrační metody a miniaturizované separační metody
3. Závěr

### 1. Úvod

Separací metody mají své nezastupitelné místo v analytické chemii, kde slouží především k oddělení složky našeho zájmu od doprovodných látek a k její následné identifikaci. Separací metody lze také využít pro kvantifikaci, tedy určení množství studované látky ve vzorku, a v neposlední řadě pro studium fyzikálně-chemických, někdy i biologických, vlastností látek. Se separačními metodami se zdaleka nesetkáváme jen v oblasti analytické chemie, o čemž svědčí moderní a prudce se rozvíjející oblast bioanalytického a biomedicínského výzkumu, ale i tradiční oblasti využití separačních metod, jako je např. farmaceutický či potravinářský průmysl. Separací metody nacházejí uplatnění i v oblasti tak specifické, jakou je forenzní věda – analýza pro kriminalistické účely.

Mezi separační (dělicí) metody můžeme zařadit procesy jako filtrace, dekantace či srážení, ale především do separačních metod řadíme metody chromatografické, jejichž objev je připisován ruskému botanikovi M. S. Cvětovi, který v roce 1903 provedl dělení listových barviv, chlorofylů a karotenoidů, na sloupci sorbentu uhlí-

čitanu vápenatého a jako mobilní fázi použil směs organických rozpouštědel<sup>1,2</sup>. V téže době rozdělil D. T. Day<sup>3–5</sup> také na sloupci sorbentu některé složky ropy. V roce 1952 získali Nobelovu cenu za práci v oboru chromatografie A. J. P. Martin a R. L. M. Synge. Principem chromatografických metod je dělení analytu mezi dvě vzájemně nemísitelné fáze, z nichž jedna je nepohyblivá, tedy stacionární, a druhá proudí, je tedy mobilní. Dělení je založeno na rozdílné afinitě složek ve směsi k mobilní a stacionární fázi. Chromatografii rozdělujeme podle uložení stacionární fáze na sloupcovou, papírovou a tenkovrstvou chromatografii. Podle použité mobilní fáze dělíme chromatografii na plynovou, kapalinovou a fluidní. V chromatografické praxi je nejčastěji využíváno kolonové neboli sloupcové uspořádání a pokud je mobilní fázi plyn, hovoříme o plynové chromatografii, v případě kapalně mobilní fáze hovoříme o kapalinové chromatografii. Ačkoli byla plynová chromatografie navržena podstatně později a lze ji využít k dělení užšího okruhu látek, její rozvoj byl velmi bouřlivý oproti chromatografii kapalinové. Plynovou chromatografii lze separovat látky plynné nebo ty, které lze definovaně převést v plyn. Po objevení rozdělovací chromatografie (stacionární fáze je kapalina) na počátku čtyřicátých let 20. století se kolonová kapalinová chromatografie začala rozvíjet do své dnešní podoby. Mezi důvody pomalejšího rozvoje kapalinové chromatografie patří mnohem složitější mechanismus separačního děje v kapalně fázi oproti fázi plynné, a především nutnost vhodné aparatury, která by zaručila dostatečně rychlou a účinnou analýzu. V počátcích kapalinové chromatografie byl pohyb mobilní fáze zprostředkovan pouze gravitační silou a používané stacionární fáze nebyly dostatečně účinné. Se zmenšením částic stacionární fáze a použitím bezpulzních vysokotlakých čerpadel pro pohyb mobilní fáze kolonou, se vyvinula současná podoba kapalinové chromatografie nazývaná HPLC (vysokotlaká neboli high pressure, vysokoúčinná či-li high performance nebo v nadsázce velmi drahá – high-priced liquid chromatography).

### 2. Historie a současnost separačních metod na Katedře analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze

Katedra analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze (PĚF UK) je nejstarší katedrou analytické chemie v České republice, vznikla v roce 1925, ale její počátky sahají až do roku 1842. Z historického hlediska je Katedra analytické chemie pracovištěm s dlouholetou a světoznámou elektrochemickou tradicí. Toto jednoznačně zaměření Katedry analytické chemie se začalo měnit v 50. letech minulého století, kdy se začaly

objevovat publikace z tehdy nově vznikajícího oboru plynové chromatografie, kterou na katedře začali rozvíjet E. Smolková-Keulemansová a L. Felzl. Od tohoto okamžiku se Katedra analytické chemie PĚF UK dostala do povědomí naší i světové odborné veřejnosti i jako pracoviště s dobrou chromatografickou pověstí. E. Smolková a L. Felzl, společně se svými nejbližšími spolupracovníky postupem času rozšířili své pole působnosti z oblasti plynové chromatografie i na chromatografii kapalinovou a později i na oblast elektromigračních metod. V laboratoři E. Smolkové vznikl nápad na využití tvorby inkluzních sloučenin při separaci plynovou chromatografií. Jednalo se o využití především cyklodextrinů, a to jak v chromatografii plynové, tak později v chromatografii kapalinové a i v elektromigračních metodách, které byly v té době v začátcích vývoje. V současné době patří cyklodextrinové stacionární fáze k nejprodávanějším komerčně dostupným fázím a poskytují velice účinné separace enantiomerů chirálních látek.

Následovnici E. Smolkové a L. Felzla se intenzivně věnovali a věnují nejen pedagogické činnosti, ale samozřejmě také činnosti vědecké v oblasti separačních metod. V současnosti je na Katedře analytické chemie PĚF UK početný pracovní tým separačních metod čítající profesory, docenty, odborné asistenty, vědecké pracovníky a především posluchače doktorských, magisterských a bakalářských studijních programů. Tým separačních metod spolupracuje při řešení projektů také s jinými pracovišti v rámci Přírodovědecké fakulty, s pracovišti Akademie věd České republiky, ale také s mnoha zahraničními pracovišti. V nedávné době byl tým separačních metod úspěšný v rámci grantového projektu EAA grants „Innovation of Laboratories of Advanced Separation Methods for Purposes of Whole-Life Education“ (tzv. Norské finanční mechanismy), který umožnil zakoupení tří špičkových přístrojů z oblasti plynové chromatografie, kapalinové chromatografie, kapilární elektroforézy a spojení těchto separačních technik s hmotnostní spektrometrií. Výzkumné zaměření separačního týmu je značně široké, od plynové chromatografie přes chromatografii kapalinovou a mikrokapalinovou až po elektromigrační metody. Zmiňované metody jsou na Katedře analytické chemie intenzivně rozvíjeny a využívány k analýze biologicky a farmaceuticky významných sloučenin, k analýze a monitorování vzorků a stavu životního prostředí, ale také ke studiu separačních mechanismů, popisu vlastností komerčně dostupných stacionárních fází či přímo k vývoji a testování nových typů a materiálů stacionárních fází, jakými jsou monolitické kolony nebo čipy pro miniaturizované separační metody. Pozornost je také věnována spojení vysokoúčinných separačních metod s metodami elektrochemickými a jejich aplikaci na stanovení látek v životním prostředí či využití ke studiu vztahu mezi strukturou a fyzikálně-chemickými vlastnostmi látek.

## 2.1. Plynová chromatografie

Skupina plynové chromatografie (GC) se zabývá vývojem nových a zdokonalováním stávajících metod úpravy vzorků pro plynovou chromatografii, hmotnostní spektrometrii (MS) a jejím spojením s GC, multidimenzionální plynovou chromatografií, chirálními separacemi, stanovením cizorodých látek v biologickém materiálu a v životním prostředí. Tato pracovní skupina je v současnosti pro řešení svých projektů vybavena špičkovým přístrojem GCxGC-MS, zakoupeným z podpory EAA grantu (Projekt FM EHP/Norsko CZ0116: Inovace laboratoří pokročilých separačních metod pro celoživotní vzdělávání).

V oblasti derivatizací pro účely GC analýz se zabývá výzkumem a použitím alkylchlormravenčanů, které reagují velmi rychle a téměř kvantitativně s látkami obsahujícími aktivní vodíkový atom (např. karboxylové kyseliny, aminokyseliny, některé aminy a alkoholy) jak v nevodném, tak i ve vodném prostředí. Příkladem jejich použití je velmi rychlá metoda stanovení perfluorovaných organických kyselin, představující skupinu perzistentních polutantů životního prostředí, metodami GC-ECD (ECD, detektor elektronového zachytu) a GC-MS (cit.<sup>6</sup>). Dalším příkladem nového přístupu pro rychlou úpravu vzorku je stanovení celkové zátěže ftalátů v potravinách s vysokým obsahem tuků<sup>7</sup>. V neposlední řadě je velmi aktuálním směrem výzkum a zdokonalování nových mikroextrakčních technik pro účely analýzy složek životního prostředí. Příkladem vývoje chirálních separačních metod a spolupráce s 1. Lékařskou fakultou Univerzity Karlovy v Praze v oblasti forenzní chemie je metoda určení věku osob na základě chirální GC separace kyseliny asparagové ze zubního centimtu<sup>8</sup>. Pracovní skupina GC se rovněž aktivně zapojuje do prudce se rozvíjející techniky multidimenzionální komprehensivní GC (GCxGC) a z tohoto důvodu uspořádala v únoru 2010 první český workshop „Albertov Comprehensive Days 2010“, kterého se zúčastnilo přes 30 specialistů z akademické, vědecké a komerční oblasti a ze státní správy.

## 2.2. Kapalinová chromatografie

Skupina vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) se zabývá vývojem nových metod a jejich aplikací v biochemickém a lékařském výzkumu a v environmentální analýze, analýzou biologicky aktivních látek, jako např. peptidů a proteinů s využitím chromatografických kolon standardních i kolon nové generace (např. Discovery HS F5, Purospher STAR nebo ZIC-HILIC), sledováním biologicky významných látek v životním prostředí (např. steroidní hormony v povrchových a odpadních vodách), chirálními separacemi látek v HPLC i v kapilární kapalinové chromatografii (CLC) a spojením kapalinové/mikrokolonové chromatografie s hmotnostní spektrometrií.

Separace chirálních látek je velmi zajímavou aplikační oblastí separačních metod, na jejímž řešení Katedra

analytické chemie úzce spolupracuje s Katedrou fyzikální a makromolekulární chemie PĚF UK, konkrétně s E. Tesařovou. Významná část přírodních látek je chirálních, vyskytují se ve formě enantiomerů, případně diastereoisomerů. Enantiomery si jsou navzájem svým zrcadlovým obrazem, případně si je lze představit jako svou pravou a levou ruku. Jedná se tedy z hlediska chemického o stejnou sloučeninu, ale liší se uspořádáním své molekuly v prostoru. V nechirálním prostředí mají enantiomery prakticky stejné fyzikálně-chemické vlastnosti jako např. bod tání a varu nebo rozpustnost, a proto nelze jednotlivé enantiomery v takovémto prostředí odlišit. V chirálním prostředí mají jednotlivé enantiomery odlišné účinky, chovají se jinak, a lze je tedy od sebe vzájemně rozlišit. Nejběžnějším chirálním prostředím jsou živé organismy, pro které je důležité, s jakým enantiomerem se dostanou do kontaktu, neboť na úrovni molekulového rozpoznávání se jednotlivé enantiomery liší svými biologickými a fyziologickými funkcemi. Odlišnému chování přírodních i synteticky připravených enantiomerů je třeba věnovat náležitou pozornost především u léčiv, ale také u agrochemikálií a při kontrole složek potravin. V případě léčiv se může jednat o rozdílné farmakodynamické a farmakokinetické vlastnosti, projevující se například rozdílnou sorpcí, distribucí nebo biotransformací jednotlivých enantiomerů v živočišných tkáních<sup>9</sup>. Běžně má jeden enantiomer požadované vlastnosti a ten druhý je neaktivní, má nižší, vyšší nebo až opačné účinky a nezdědká bývá zdraví nebezpečný, například teratogenní. Poměr enantiomerů jednotlivých složek potravin významně ovlivňuje nejenom chuť a vůni výrobku, ale také jeho výživovou hodnotu<sup>10</sup>.

Pro separace opticky aktivních látek se nejčastěji využívá metoda vysokoučinné kapalinové chromatografie, kdy k enantioseparaci dochází na stacionární fázi s navázanou opticky čistou látkou, tzv. chirálním selektorem. Jako příklad výzkumu prováděného na obou spolupracujících katedrách lze uvést využití stacionárních fází s navázanými chirálními selektory na bázi cyklodextrinů nebo makrocyklických antibiotik (teikoplaninu a vankomycinu) pro úspěšnou enantioseparaci strukturně odlišných chirálních sloučenin, např. aminoalkoholů, které fungují jako beta-blokátory (látky používané k léčbě vysokého krevního tlaku a nepravidelného srdečního rytmu), derivátů 2-arylpropionové kyseliny (nesteroidních protizánětlivých profenů), herbicidů na bázi chlorfenoxypionových kyselin a aminokyselin s rozvětveným řetězcem. Jednotlivé enantiomery studovaných beta-blokátorů mají odlišné terapeutické účinky, enantiomery chlorfenoxypionových kyselin mají rozdílnou herbicidní aktivitu a D-enantiomery studovaných esenciálních aminokyselin jsou považovány za nežádoucí součást potravinových doplňků<sup>11,12</sup>. Výzkum v oblasti chirálních sloučenin je zaměřen nejen na hledání vhodných separačních podmínek, umožňujících dostatečné enantiorozlišení, ale i na studium stability jednotlivých enantiomerů, možnosti aplikace semipreparativního módu nebo sledování vlivu obsahu a způsobu navázání chirálního selektoru k nosiči na stereoselektivní vlastnosti chirálních stacionárních fází. Pozornost je věno-

vána i testování miniaturizovaných systémů, umožňujících porovnat enantioseparaci s chirálním selektorem vázaným ve formě chirální stacionární fáze nebo volně přidaným do fáze mobilní, což je důležité pro objasnění stereointerakčních mechanismů<sup>13</sup>.

Další zajímavou oblastí výzkumu prováděného separačním týmem Katedry analytické chemie PĚF UK je analýza a separace ligandů pro biomedicínké aplikace derivátů cykluenu. Polykarboxylátové deriváty cykluenu (1,4,7,10-tetraazacyklododekan) jsou schopné koordinovat gadolinový ion a vytvořit tak velmi stabilní komplex. Tento komplex lze následně použít u pacienta s podezřením na nádorové onemocnění jako kontrastní látku pro neinvazivní vyšetření magnetickou rezonancí. Polykarboxylátové deriváty cykluenu jsou připravovány složitou několikastupňovou syntézou, proto je nezbytné vyvinout vhodnou metodu separace syntetizovaných derivátů, která by poskytla rychlou kontrolu čistoty jednotlivých derivátů a případně byla použitelná i v preparativním měřítku. Takovou metodu se podařilo vyvinout. Jedná se o reverzní kapalinovou chromatografii ve spojení s bezkontaktním vodivostním detektorem<sup>14</sup>. Vyvinutá metoda reverzní kapalinové chromatografie byla dále optimalizována a porovnána s nově vypracovanou metodou kapilární elektroforézy v nevodném prostředí. Obě metody poskytly účinné a rychlé analýzy s celkovým časem separace do 12 min, umožnily provést kvantitativní stanovení vybraných derivátů cykluenu na koncentrační úrovni  $10^{-5}$  až  $10^{-6}$  mol  $l^{-1}$  a byly úspěšně použity pro stanovení reálných vzorků derivátů cykluenu bez jakékoliv předchozí úpravy<sup>15</sup>.

Analýze biologicky aktivních látek je na našem pracovišti věnována značná pozornost. Pro tuto skupinu analytů využíváme nejen metody kapalinové chromatografie, ale také metody elektromigrační a miniaturizované separační metody, jak bude zmíněno později. Významnou skupinu studovaných biologicky aktivních látek tvoří bioaktivní peptidové hormony, které vykonávají v lidském organismu, nebo obecně v organismu savců, důležité biologické funkce. Pro analýzu skupiny bioaktivních nonapeptidů (tvořeny devíti aminokyselinami, analogy vasopresinu) jsme úspěšně využili kromě standardních chromatografických stacionárních fází na bázi silikagelu také moderní reverzní stacionární fáze na bázi oxidu zirkoničitého. Tyto moderní stacionární fáze nabízejí lepší možnosti optimalizace separačního procesu v porovnání se silikagelovými materiály. Při separaci peptidů lze s úspěchem využít smíšený separační mód, který zirkoniové kolony nabízejí. Při úspěšné separaci analogů vasopresinu na zirkoniových kolonách byla použita mobilní fáze obsahující pouze 5 % acetonitrilu jako organického modifikátoru. Tyto vyvinuté podmínky separace jsou šetrné a umožňují zachování biologické aktivity analytů, zároveň přinášejí výhody v podobě finanční úspory za organická rozpouštědla. Optimalizované pracovní podmínky zaručily kompletní separaci studovaných vasopresinů v celkovém čase do 6 min a dosažení meze detekce v řádu jednotek mikrogramů na mililitr<sup>16</sup>.

Znečištění životního prostředí v důsledku lidské činnosti neustále narůstá. Novým typem polutantů životního

prostředí jsou látky, které ovlivňují endokrinní systém velkého množství organismů, včetně nás lidí. Příkladem tohoto typu polutantů jsou estrogenní hormony. Ačkoliv se přírodní i synteticky připravené estrogény vyskytují v životním prostředí ve velmi malých koncentracích (řádově jednotky až stovky nanogramů na litr), byl zaznamenán jejich vliv na reprodukci volně žijících zvířat a i lidí. Tento problém difúzního znečištění hormony je v naší pracovní skupině intenzivně studován<sup>17</sup>. Jde o složitou problematiku, která vyžaduje využití vysoce citlivých separačních metod v kombinaci s účinnými technikami úpravy a zakoncentrování vzorků.

### 2.3. Elektromigrační metody a miniaturizované separační metody

Tým elektromigračních a miniaturizovaných separačních metod se zaměřuje na vývoj a využití elektromigračních metod v analýze malých i velkých molekul s výraznou biologickou aktivitou. Neméně významnou oblastí zájmu této pracovní skupiny jsou miniaturizované chromatografické metody, především kapilární kapalinová chromatografie (CLC) a čipová nanokapalinová chromatografie (chip-HPLC), a jejich následné spojení s hmotnostní detekcí. Velká pozornost je také věnována vývoji a charakterizaci kapilárních monolitických a náplňových kolon a možnosti jejich aplikace ve spojení s hmotnostní spektrometrií.

Elektromigrační metody lze využít pro dělení nabitých látek. K procesu dělení dochází v elektrickém poli o velikosti řádově jednotek až desítek kilovoltů, které je vytvořeno mezi dvěma elektrodami. Rychlost pohybu dělených látek (v iontové formě) ve vytvořeném elektrickém poli závisí především na poměru velikosti jejich náboje a hmotnosti, na tzv. elektroforetické pohyblivosti. Na našem pracovišti využíváme z elektromigračních metod nejčastěji kapilární zónovou elektroforézu, a v současné době také kapilární gelovou elektroforézu. Separačním prostorem u obou zmíněných metod je křemenná kapilára o vnitřním průměru desítek až stovek mikrometrů, která je u kapilární zónové elektroforézy vyplněna základním elektrolytem, tj. více či méně složitou směsí vodných roztoků pufrů, nebo v případě gelové elektroforézy vhodně zvoleným chemickým nebo fyzikálním gelem. Kapilární zónová elektroforéza byla na našem pracovišti úspěšně využita pro dělení 20 nederivatizovaných proteogenních aminokyselin. Základní elektrolyt, který umožnil separaci těchto esenciálních aminokyselin v různých přírodních matricích jako pivo, kvasnice, rostlinné extrakty, ale i moč nebo sliny, byl tvořen pouze kyselinou octovou o koncentraci 2,3 mol l<sup>-1</sup> a hydroxyethylcelulosou (0,1 hm.%). Přídavek hydroxyethylcelulosy do základního elektrolytu potlačil dva jevy, často negativně ovlivňující separační proces v kapilární zónové elektroforéze, a to adsorpci analytu na stěnu křemenné kapiláry a elektroosmotický tok. Elektroosmotický tok vzniká v důsledku ionizace silanolových skupin ( $\equiv\text{Si}-\text{OH}$ ) přítomných na vnitřní stěně křemenné kapiláry. Po aplikaci elektrického pole dochází k pohybu nabitých

částic, vzniklých disociací silanolových skupin a tyto nabitě částice při svém pohybu strhávají celý obsah separační kapiláry (základní elektrolyt a i separované nabitě analyty) k příslušné elektrodě. Při tomto výzkumu byl navíc využit typ detektoru, který je na naší katedře intenzivně vyvíjen a optimalizován nejen pro kapilární elektroforézu, ale také pro kapalinovou chromatografii, a to bezkontaktní vodivostní detektor. Tento typ detektoru je výhodné použít pro vizualizaci malých anorganických a organických iontů, které vykazují nízkou absorpci v ultrafialové (UV) a viditelné oblasti spektra, anebo pro detekci analytů při použití vysoce absorbujícího základního elektrolytu v UV oblasti<sup>18</sup>. Kapilární zónová elektroforéza také umožňuje určení fyzikálně-chemických charakteristik biologicky aktivních látek, jakými je např. disociační konstanta ropinirolu, potenciálního léčiva Parkinsonovy nemoci, a doprovodných, strukturně podobných nečistot pocházejících ze syntézy a jejich následnou účinnou separaci a spolehlivou kvantifikaci v relativně krátkém čase (do 15 min) za minimální spotřeby vzorku a ostatních potřebných chemikálií<sup>19</sup>.

Nově se naše pracovní skupina zaměřuje na metodu kapilární gelové elektroforézy a možnosti jejího využití v analýze bílkovin<sup>20</sup>. Metoda kapilární gelové elektroforézy je velmi perspektivní v oblasti proteomiky, do níž samozřejmě analýza bílkovin patří. Tato metoda umožňuje vhodně měnit podmínky, aby co nejlépe vyhovovaly konkrétní problematice. Jako separační gely lze použít chemické gely, jejichž polymerní řetězce jsou navzájem propojeny chemickými vazbami (tj. trojrozměrné sesíťované gely), nebo gely fyzikální, jejichž struktura je dána fyzikálními interakcemi typu vodíkové můstky nebo hydrofobní interakce (tzv. propletené lineární gely). Aplikace fyzikálních gelů při kapilární gelové elektroforéze přináší řadu výhod, především možnost výměny separačního média po každé analýze. Tento krok prodlužuje životnost použité separační kapiláry a významně zvyšuje reprodukovatelnost analýzy.

Metoda kapilární kapalinové chromatografie a její výběr pro řešení rozličných analytických problémů je plně v souladu se současným trendem v mnoha vědeckých a průmyslových oblastech, s trendem miniaturizace, a proto i náš pracovní tým věnuje miniaturizovaným separačním technikám náležitou pozornost. Separační mechanismus CLC je zcela totožný s mechanismem uplatňovaným v klasické kapalinové chromatografii, ovšem CLC vykazuje řadu výhod jako je nízká spotřeba vzorku a všech ostatních chemikálií včetně organických rozpouštědel a drahých aditiv přidávaných do mobilní fáze při současném zachování vysoké separační účinnosti, vyšší kompatibilita s hmotnostní spektrometrií jako detekční technikou a respektování ochrany životního prostředí. Zmiňované výhody kapilární kapalinové chromatografie se projevují zejména při analýzách vzorků v biologických tekutinách, jejichž množství je často značně omezené a analýzy je nutno vícekrát opakovat, aby byla zaručena požadovaná spolehlivost analytických výsledků. Na našem pracovišti byla vyvinuta metoda kapilární kapalinové chromatografie aplikovatelná např. pro separaci a kvantifikaci nově syntetizovaných

thioderivátů akridinů, které jsou odvozeny od struktury dibenzopyridinu. Akridiny patří do skupiny významných chemoterapeutik s prokázáním antibakteriálním, antimykotickým a především antimalarickým účinkem. Optimalizované experimentální podmínky zaručily dobrou separaci 5 studovaných akridinů i doprovodných nečistot a umožnily určení meze detekce a meze stanovení jednotlivých akridinů, které se pohybovaly v jednotkách až desítkách mikromolů na litr<sup>21</sup>. Vypracovaná metoda kapilární kapalinové chromatografie byla dále optimalizována a dovolila separaci a kvantifikaci dokonce deseti derivátů 9-(alkylthio)akridinů v biologické matrici tvořené lidskou močí bez jakékoliv předchozí úpravy vzorku<sup>22</sup>.

Miniaturizace separačních kolon ve vysokoučinné kapalinové chromatografii je jedním z nejdůležitějších současných úkolů v oblasti analytických separačních technik. Dochází k postupnému zmenšování vnitřního průměru kolon až na hodnoty 10 až 150  $\mu\text{m}$  v nanochromatografii. Hlavní důraz je při přípravě miniaturizovaných separačních kolon kladen na jednoduchost jejich přípravy při současném zachování vysoké separační účinnosti, které dosahují kolony klasických rozměrů. Chromatografické kolony na bázi monolitů se zdají být vhodným řešením tohoto úkolu. Celý tým separačních metod na naší katedře se výzkumu v této oblasti intenzivně věnuje už více než 10 let (cit.<sup>23</sup>). Monolitické kolony se připravují zapolymerováním vhodných monomerních jednotek do bloku porézního polymeru, který vyplní vnitřek separační kolony, a plní tak v koloně funkci stacionární fáze. Monolitické kolony lze, na rozdíl od kolon náplňových, připravit poměrně snadno i v kapilárách o průměru několika desítek mikrometrů a navíc není třeba monolitické kolony na koncích opatřovat fritami, které udržují zrna stacionární fáze v náplňové koloně. Pro přípravu monolitických kolon se používají různé polymery a kopolymery. Z našeho pohledu se jako velmi perspektivní jeví monolity na bázi methakrylátu. Jako první jsme optimalizovali přípravu methakrylátových monolitických kolon v křemenných kapilárách o vnitřním průměru 320  $\mu\text{m}$  pro jejich použití v kapilární kapalinové chromatografii<sup>24</sup>. Systematickou experimentální práci se podařilo výrazně zjednodušit složením polymerizační směsi pro přípravu butylmethakrylátových monolitických kolon v křemenných kapilárách o vnitřním průměru 320  $\mu\text{m}$  a připravit tak monolitické kolony s dostatečnou permeabilitou, značnou tlakovou odolností (až do 30 MPa) a výbornou účinností pro separace malých organických molekul. Účinnost takto připravených butylmethakrylátových monolitů byla jen zhruba dvakrát nižší než u konvenčních náplňových kolon a také reprodukovatelnost přípravy monolitů byla uspokojivá<sup>25</sup>. Pro separaci větších organických molekul, konkrétně oligonukleotidů složených z 19 či 20 deoxyribonukleosidových bází, kapilární kapalinovou chromatografií byla optimalizována příprava hydroxymethylmethakrylátových monolitických kolon v křemenných kapilárách o vnitřním průměru 320  $\mu\text{m}$ . Připravené hydroxymethylmethakrylátové monolitické kolony byly používány v kapilárním HILIC chromatografickém módu (HILIC, chromatografie hydrofilních interakcí). Jedná se

v podstatě o metodu normální chromatografie, kdy voda slouží jako nejsilnější eluční činidlo. Připravené monolitické kolony umožnily separaci oligonukleotidů o rozdílné délce i o rozdílné sekvenci, lišící se často jen v jedné nukleosidové bázi, v přijatelném čase do 35 min. Značná jednoduchost přípravy těchto monolitů, společně s její dobrou reprodukovatelností, předurčují tyto monolitické kolony k zavedení do analytických, klinických a farmaceutických laboratoří, kde je třeba spolehlivě analyzovat větší množství složitých směsí biologicky významných látek<sup>26</sup>.

### 3. Závěr

Z výše uvedeného přehledu principů a aplikací analytických separačních metod používaných v jednom týmu a na jednom pracovišti je patrné, že současné analytické separační metody skýtají obrovský separační potenciál a široké aplikační možnosti. Vývoj separačních metod jdoucích cestou miniaturizace a spojení těchto metod s moderními citlivými detekčními technikami není zdaleka ukončen. Přestože jsou dnešní analytické separační metody již velmi citlivé, selektivní, účinné a tolerantní k životnímu prostředí, analytická praxe stále volá po jejich větší citlivosti, selektivitě, účinnosti a kompatibilitě se životním prostředím. Všem analytickým chemikům zbývá ujít ještě kus krkolomné cesty a přesto požadavky odborníků z analytické praxe nebudou nikdy plně a beze zbytku uspokojeny. Neustálé zdokonalování analytických separačních metod musí být vnímáno jako nepřetržitý, nikdy nekončící proces.

*Autoři děkují za finanční podporu norským finančním mechanismům, grantový projekt FM EHP/Norsko CZ0116, a MŠMT České republiky, výzkumný záměr MSM 0021620857.*

### LITERATURA

1. Cvet M.: Proc. Warsaw Soc. Nat. Sci., Biol. Sec. 1903, 14.
2. Cvet M.: Ber. Deut. Botan. Ges. 24, 316 (1906).
3. Day D. T.: Proc. Am. Phil. Soc. 36, 112 (1897).
4. Day D. T.: Congr. Intern. Petrole Paris 1, 53 (1900).
5. Day D. T.: Science 17, 1007 (1903).
6. Dufková V., Čabala R., Maradová D., Štícha M.: J. Chromatogr., A 1216, 8659 (2009).
7. Ostrovský I., Čabala R., Kubinec R., Górová R., Blaško J., Kubincová J., Římnáčová L., Lorenz W.: Food Chem. 124, 392 (2011), doi:10.1016/j.foodchem.2010.06.045.
8. Pilin A., Čabala R., Pudil F., Bencko V.: J. Forensic Sci. 46, 1228 (2001).
9. Řičicová V., Rousová Z., Beneš L.: Čes. Slov. Farm. 51, 17 (2002).
10. Srkalová S., Kalíková K., Tesařová E.: Chem. Listy 102, 480 (2008).
11. Káfková B., Bosáková Z., Tesařová E., Coufal P.,

- Messina A., Sinibaldi M.: *Chirality* 18, 531 (2006).
12. Honetschlagerov-Vadinsk M., Srkalov S., Bosáková Z., Coufal P., Tesařová E.: *J. Sep. Sci.* 32, 1704 (2009).
  13. Kafkov B., Bosáková Z., Tesařová E., Coufal P.: *J. Chromatogr., A* 1088, 82 (2005).
  14. Hamplová A., Coufal P., Bosáková Z., Opekar F., Kubcek V.: *Chem. Listy* 102, 194 (2008).
  15. Hamplová A., Křizek T., Kubcek V., Bosáková Z., Coufal P.: *J. Sep. Sci.* 33, 658 (2010).
  16. Janeckov L., Sobotníková J., Tesařová E., Bosáková Z.: *Chem. Listy* 104, 334 (2010).
  17. Pacáková V., Loukotkov L., Bosáková Z., Štulík K.: *J. Sep. Sci.* 32, 867 (2009).
  18. Coufal P., Zuska J., van de Goor T., Gař B.: *Electrophoresis* 24, 671 (2003).
  19. Coufal P., Štulík K., Claessens H. A., Hardy M. J., Webb M.: *J. Chromatogr., B* 720, 197 (1998).
  20. Křizek T., Coufal P., Bosáková Z., Tesařová E., Sobotníková-Suchnkov J.: *Chem. Listy* 103, 130 (2009).
  21. Bosáková Z., Tesařová E., Coufal P., Kafkov B., Barbe J.: *Chem. Listy* 95, 569 (2001).
  22. Srbek J., Bosáková Z., Tesařová E., Suchnkov J., Coufal P., Nemcov I.: *Chromatographia* 60, S37 (2004).
  23. Štulík K., Pacáková V., Suchnkov J., Coufal P.: *J. Chromatogr., B* 841, 79 (2006).
  24. Coufal P., Čihk M., Suchnkov J., Tesařová E.: *Chem. Listy* 95, 509 (2001).
  25. Grafnetter J., Coufal P., Tesařová E., Suchnkov J., Bosáková Z., Ševek J.: *J. Chromatogr., A* 1094, 43 (2004).
  26. Holdřvendov P., Suchnkov J., Bunek M., Bačkovsk V., Coufal P.: *J. Biochem. Biophys. Methods* 70, 23 (2007).

**J. Sobotníková, Z. Bosáková, R. Čabala, P. Coufal, V. Pacáková, and K. Štulík** (*Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague*): **The History, Present and Prospects of Analytical Separation Methods at Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science, Charles University in Prague**

An overview of principles and applications of analytical separation methods used by a research team in analytical laboratory is given. The immense separation potential and wide applications of current separation methods in analytical chemistry are shown and discussed. The present development in the separation methods is characterized by miniaturization and hyphenation with modern sensitive detection techniques. Although current analytical separation techniques are generally considered as sensitive, selective, efficient and tolerant of the environment, their progress will never end.

## VÝUKA CHEMIE

### STŘEDOŠKOLSKÁ ODBORNÁ ČINNOST – CESTA KE ZKVALITNĚNÍ PŘÍPRAVY VYSOKOŠKOLSKY VZDĚLANÝCH ANALYTICKÝCH CHEMIKŮ

JIRÍ BAREK<sup>a</sup>, HELENA KLÍMOVÁ<sup>b</sup>,  
VLASTIMIL VYSKOČIL<sup>a</sup> a JIRÍ ZAJÍČEK<sup>c</sup>

Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta,  
<sup>a</sup> Katedra analytické chemie, UNESCO laboratoř elektrochemie životního prostředí, <sup>b</sup> Katedra učitelství a didaktiky chemie, Albertov 6, 128 43 Praha 2, <sup>c</sup> Masarykova střední škola chemická, Křemencova 179/12, 116 28 Praha 2  
barek@natur.cuni.cz, kli@natur.cuni.cz,  
jiri.zajicek@mssch.cz

Došlo 20.8.10, přijato 23.9.10.

Klíčová slova: středoškolská odborná činnost, cesta k vědě, analytická chemie, propagace chemie, rozvojové programy MŠMT ČR

#### Obsah

1. Úvod
2. Pohled středoškolského učitele
3. Pohled vysokoškolského učitele didaktiky
4. Pohled vysokoškolského učitele seniora
5. Pohled vysokoškolského učitele juniora
6. Závěr

#### 1. Úvod

Rostoucí požadavky společnosti na kontrolu zdraví obyvatelstva, životního prostředí, zemědělských a potravinářských produktů a řady dalších výrobků kladou neustále rostoucí nároky na vysoce odborně vzdělané, kvalifikované a teoreticky i experimentálně dobře připravené pracovníky analytických laboratoří, které musí tyto požadavky řešit. Obrovský rozmach moderní analytické instrumentace, bez níž je řešení těchto požadavků nemyslitelné, nutně vede k požadavku, aby naprostá většina těchto pracovníků měla vysokoškolské vzdělání, ať už bakalářského či magisterského stupně. Vysoké školy realizující přípravu těchto vysokoškoláků jsou tak postaveny před neobyčejně obtížný úkol z následujících důvodů:

- rostoucí kvantita studentů přijímaných na vysoké školy se do jisté míry nepříznivě odráží v nižší kvalitě uchazečů o studium analytické chemie,
- klesající zájem o studium technických a přírodovědných oborů má stejné důsledky,
- rostoucí procento populace získávající vzdělání středoškolské se do jisté míry rovněž nepříznivě odráží v kvalitě absolventů středních škol navzdory sebevětšímu úsilí středoškolských učitelů.

Aby střední a vysoké školy se ctí splnily své úkoly při přípravě nové a co nejkvalitnější generace analytických chemiků, musí této problematice věnovat patřičnou pozornost a v maximální možné míře používat nové a moderní přístupy reagující na výše uvedené problémy.

Jednou z možností je iniciovat zájem středoškolských studentů o analytickou chemii formou Středoškolské odborné činnosti, různých kurzů či soutěží organizovaných pro středoškoláky katedrami analytické chemie a dalšími netradičními akcemi. Jistě bude k těmto účelům možno využít i Mezinárodní rok chemie, který na rok 2011 vyhlásilo UNESCO.

Předkládaný článek je pokusem o úvahu nad těmito možnostmi z pohledu různých účastníků procesu přípravy vysokoškolsky vzdělaných analytických chemiků, počínaje ředitelem jedné z nejkvalitnějších chemicky zaměřených středních škol, přes vysokoškolského učitele zaměřeného na didaktiku chemie a učitele zaměřeného na elektroanalytickou chemii jako jednu z oblastí moderní analytické chemie až po čerstvého absolventa a začínajícího učitele vysokoškolské analytické chemie.

#### 2. Pohled středoškolského učitele

Kvalitní výuka chemie nemůže být jen suchá teorie, ale musí to být praktická věda, která zahrnuje spoustu experimentální práce a vyžaduje mnoho času stráveného v laboratoři. Nové pojetí středoškolských oborů vzdělávání podle rámcových vzdělávacích programů sice zahrnuje laboratorní výuku, ale musí být dodržen maximální týdenní počet vyučovacích hodin, který je nepřekročitelný. Současný trend středního vzdělávání v posledních letech směřuje v maturitních oborech stále více ke vzdělávání všeobecnému, odborné vzdělávání se tak dostává do poměrně svízelné pozice. Nutnost zvýšit hodinové dotace všeobecně vzdělávacích předmětů tak vede k omezování odborné výuky a také ke snížení podílu laboratorních cvičení na výuce. Přes tento trend se na Masarykově střední škole chemické snažíme odbornost školy zachovat a zejména talentovaným žákům umožnit další odborný růst.

Jednou z cest, jak vést žáky s hlubším zájmem o chemii k odborné experimentální činnosti v laboratoři, je Středoškolská odborná činnost (SOČ). Masarykova střední



škola chemická (MSSCH) dlouhodobě spolupracuje s celou řadou vysokých škol a výzkumných ústavů. Mezi naše partnery patří například Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze (PřF UK v Praze), Vysoká škola chemicko-technologická v Praze (VŠCHT Praha), Ústav fyzikální chemie Jaroslava Heyrovského (ÚFCH JH), Ústav makromolekulární chemie (ÚMCH), Ústav chemických procesů (ÚCHP), Mikrobiologický ústav a další ústavy Akademie věd České republiky, v.v.i. (AV ČR). Díky této spolupráci je možné zapojit žáky již od druhého ročníku do odborné činnosti. Je to sice časově nesmírně náročná záležitost, ale kontakt žáků středních škol s těmito vynikajícími vědeckými pracovišti považujeme za velice přínosný. Vyvrcholením dlouhodobé práce je dvou týdnů odborná praxe, zařazená na konci třetího ročníku, a prezentace dosažených výsledků na studentské odborné konferenci (SOK) v ročníku čtvrtém. V rámci této konference, která je důležitou závěrečnou etapou odborné práce žáků, jsou jednotlivé práce prezentovány soutěžní formou před odbornou porotou, členy poradního sboru školy a auditoriem plným spolužáků a učitelů naší školy. Nejlepší práce potom postupují do soutěže SOČ, případně do soutěže vědeckých a technických projektů Asociace pro mládež, vědu a techniku (AMAVET). V minulém roce bylo v rámci jubilejního 10. ročníku SOK pořádaného ve spolupráci s Ústavem makromolekulární chemie AV ČR prezentováno šest soutěžních prací. Pro ilustraci uvádíme nejen dosažené pořadí soutěžících, ale i název práce a školitele, abychom demonstrovali širokou spolupráci naší školy se špičkovými chemickými pracovišti: 1. místo ~ Vít Svoboda: *Konstrukce a charakterizace diodových laserů pro analýzu stopových množství látek v plynných vzorcích* (školitel Mgr. Ondřej Votava, Ph.D., ÚFCH JH AV ČR); 2. místo ~ Ivan Kobelev: *Syntéza derivátů silybinu* (školitel Mgr. David Biedermann, Ph.D., Mikrobiologický ústav AV ČR); 3. místo ~ Marcela Kotasová: *Voltametrické stanovení chemoterapeutika metronidazolu na rtuťovém meniskem modifikované tuhé stříbrné amalgámové elektrodě* (školitelé prof. RNDr. Jiří Barek, CSc. a Mgr. Vlastimil Vyskočil, Ph.D., Katedra analytické chemie PřF UK v Praze); 4. – 6. místo ~ Martina Hanyiková: *Výroba kyseliny 1,1'-binaftalen-2,2'-dikarboxylové a její štěpení na enantiomery* (školitel Mgr. Roman Holakovský, Ph.D., Ústav organické chemie VŠCHT Praha), Jan Parolek: *Příprava amidinů* (školitel Mgr. Roman Holakovský, Ph.D., Ústav organické chemie VŠCHT Praha), Adam Málek: *Voltametrické stanovení 1-(3-chloro-2-hydroxypropyl)-2-methyl-5-nitroimidazolu na rtuťovém meniskem modifikované amalgámové elektrodě* (školitelé prof. RNDr. Jiří Barek, CSc. a Mgr. Vlastimil Vyskočil, Ph.D., Katedra analytické chemie PřF UK v Praze).

Na tomto místě se patří poděkovat i odborné porotě, která pracovala ve složení prof. Ing. Jiří Svoboda, CSc. (VŠCHT Praha), prof. Ing. František Liška, CSc. (Pedagogická fakulta UK v Praze), Ing. Jiří Kotek, Dr. (ÚMCH AV ČR), prof. Ing. Anatol Malijevský, CSc. (VŠCHT Praha) a Mgr. Jana Dudrová (MSSCH). Další poděkování patří všem zapojeným pracovištím, která

umožnila našim žákům tuto činnost realizovat, a jejich pracovníkům, kteří jim věnovali svůj čas. O úspěšný průběh SOK se v neposlední řadě zasloužila také Ing. Zita Valentová, která na MSSCH organizuje SOČ a zaslouží velké poděkování.

### 3. Pohled vysokoškolského učitele didaktiky

Na příklon většiny nadané populace uvažující o vysokoškolském studiu k ekonomickým, právním, filosofickým či historickým disciplínám, který je v řadě případů motivován i ekonomickými úvahami, je nutné reagovat popularizací chemie a jejím přiblížením mladé generaci. Katedra učitelství a didaktiky chemie (KUDCh) a oborové katedry chemické sekce PřF UK v Praze s tímto cílem dlouhodobě spolupracují se středními školami, a to jak s učiteli – zejména při jejich dalším vzdělávání a konzultačních činnostech, tak přímo s žáky – při jejich zapojování do odborných fakultních aktivit. V posledních letech, díky rozvojem projektům Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky (MŠMT ČR), které získala KUDCh a které byly zaměřeny na „podporu individuálního rozvoje a vyhledávání talentovaných žáků v přírodních vědách“, byly v oblasti spolupráce fakulty se středními školami podporovány a rozvíjeny především ty aktivity, které směřovaly přímo k žákům středních škol. (Je škoda, že v rámci různých úspor v letošním roce bohužel nebyly v rámci rozvojových projektů MŠMT ČR tyto aktivity vysokých škol podpořeny).

Tyto aktivity byly založeny na experimentálním charakteru chemie, který motivuje žáky k další činnosti v tomto oboru. Jistou komplikací v této oblasti je ne vždy dostatečné laboratorní a přístrojové vybavení na středních školách, které by umožňovalo realizaci náročnějších experimentálních úloh s důrazem na rychle se rozvíjející oblasti vědy a jejich aplikační výstupy.

Pokud tedy chceme podchytit a rozvíjet zájem žáků, kteří mají předpoklady pro úspěšné studium na vysoké škole, o moderní chemii, musíme především sami na fakultě hledat možnosti, jak navrhnout a realizovat aktivity zaměřené k tomuto cíli. Za důležité považujeme zejména zpřístupnění špičkově vybavených chemických laboratoří žákům středních škol, osobní kontakty s významnými odborníky či zapojení do badatelských týmů fakulty již v průběhu studia na středních školách. Proto jsme se rozhodli připravit a realizovat ve spolupráci se středními školami systém kurzů a dalších aktivit orientovaných přímo na žáky těchto škol. Jedná se o laboratorní kurzy pro volitelnou nadstandardní výuku, vedení odborných prací v chemických laboratořích PřF UK v Praze, zapojení žáků středních škol do řešení vědeckých projektů na pracovištích, ať již v rámci individuálních projektů vypsaných chemickými katedrami v rámci projektu Cesta k vědě nebo vedení odborných prací na fakultě v rámci SOČ. Zvláště poslední dvě uvedené aktivity přispívají podle našich zkušeností k rozvoji vlastností žáků významných pro badatelskou činnost – schopnost týmové a systematické práce,

odpovědnost za své výsledky, motivace pro další badatelskou činnost, sumarizace výsledků odborné činnosti formou článků a prezentací pro laickou i odbornou veřejnost.

Předpokládáme, že takovýto přístup ze strany fakulty ke středoškolskému chemickému vzdělávání bude mít dopad i na zvýšení povědomí o možnostech studia chemických oborů na PŘF UK v Praze a přispěje k nahlížení na chemii jako na vzrušující vědeckou disciplínu s perspektivou společensky uznávaného profesionálního uplatnění a ke zvýšení společenské prestiže chemie, v současné době velmi negativně medializované.

#### 4. Pohled vysokoškolského učitele seniora

Měl jsem to štěstí, že jsem vyrůstal v době, kdy chemie patřila k populárním, obdivovaným a všeobecně uznávaným disciplínám. Navíc v době rovnostářství, kdy každý věděl, že ať vystuduje cokoliv, bude mít stejný nevalný plat a práci jistě najde. Tato negativní situace měla i jedno nesporné pozitivum: středoškolští studenti se při volbě studia vysokoškolského řídili hlavně svým zájmem a nemuseli se ohlížet na ekonomické momenty. Díky tomu se mi podařilo vystudovat analytickou chemii na PŘF UK v Praze v kolektivu spolužáků stejně zanícených, jako jsem byl já, a pod vedením vysokoškolských učitelů hodných toho jména. Poměrně náročné přijímací řízení, jehož sítím prošlo cca 20 % zájemců o studium, vedlo k tomu, že naši učitelé na nás mohli klást a také kladli požadavky v dnešní době jen obtížně představitelné. Ziskali jsme poměrně obecný přehled o celé chemii, dělali státní závěrečnou zkoušku před skutečnými osobnostmi reprezentujícími špičku tehdejší české chemie, a to ze všech pěti chemických oborů. Nebyli jsme zatíženi obrovským počtem úzce specializovaných přednášek a bylo nám vždy vštěpováno do hlavy, že pro stromy nesmíme přestat vidět les.

Občas se zamýšlím nad tím, co bychom měli dělat, aby naši dnešní studenti měli za 40 let podobný pocit. Je jasné, že množství důležitých informací roste přímo exponenciálně a předpovědět, které z nich budou důležité i za 10 či 20 let, je prakticky nemožné. A snažme-li se učit studenty řešit problémy, se kterými jsme se setkávali my, znamená to připravovat je na minulost, nikoliv na budoucnost. Ale jedním jsem si zcela jist – nejlepší cestou k výchově kvalitních absolventů analytické chemie je přijímání kvalitních studentů. A jedinou cestou k tomuto cíli je věnovat pozornost žákům na středních školách, ba dokonce i školách základních – žákům i jejich učitelům. Jedině touto cestou naplníme naše posluchárny a laboratoře studenty, kteří budou akceptovat naše náročnější požadavky prostě proto, že chemie je baví, mají ji rádi a chtějí ji dělat co nejlépe. A jsem přesvědčen, že právě středoškolská odborná činnost nám může k dosažení tohoto cíle výrazně pomoci. Proto Katedra analytické chemie PŘF UK v Praze vždy ochotně přijímá středoškolské studenty na kratší či delší experimentálně zaměřené stáže do svých laboratoří. Při těchto stážích se žáci seznámí s moderními analytickými metodami, s novými přístupy k řešení významných

analytických problémů, s atmosférou v nově renovovaných zdech starobylého Chemického ústavu. Navzdory značným časovým i finančním nárokům tyto akce považujeme za dobrou investici. Podaří-li se nám totiž nadchnout opravdu nadané středoškolské studenty právě pro studium našeho oboru v naší laboratoři, pak se nám to mnohonásobně vrátí v jimi naměřených výsledcích, neboť si musíme přiznat, že naše generace vysokoškolských učitelů již více papíruje, než experimentuje.

Přiznám se, že při praktické realizaci nejrůznějších programů pro středoškolské studenty jsem byl překvapen několika skutečnostmi. Za prvé zájmem a pracovním nasazením středoškolských studentů, které bez problémů konkurují zájmu a nasazení průměrného studenta bakalářského studia. A za druhé výbornými faktickými znalostmi nejen chemie, ale často i potřebné výpočetní techniky. I v této oblasti se nejlepší středoškoláci mohou klidně měřit s našimi průměrnými studenty bakalářského studia.

Dovolují si tedy uzavřít tuto svou úvahu konstatováním, že hledání mladých talentů mezi středoškoláky se brzy stane jednou z nejdůležitějších povinností vysokoškolského učitele, pokud bude chtít vychovávat absolventy schopné konkurence v evropském či dokonce světovém měřítku.

#### 5. Pohled vysokoškolského učitele juniora

Mým prvním kontaktem se SOČ byl můj vlastní projekt, který jsem vypracovával v rámci studia na Gymnáziu Jiřího Wolkerova v Prostějově a jehož název zněl *Geologická stavba okolí mého bydliště*. V té době, ještě jako mladý zanícený mineralog a geolog, jsem byl rozhodnut, že půjdu studovat na vysokou školu obor spojený právě s tímto svým zájmem. Jak jsem však pozoroval upadající důlní činnost v rámci prakticky celé České republiky, která koncem minulého století vedla k likvidaci velké části těžebního průmyslu, začal jsem svůj zrak upírat ke, z mého pohledu, perspektivnějšímu, avšak od mineralogie ne toliko vzdálenému, oboru – chemii. Jelikož jsem již v té době v chemii dával značnou přednost určování složení sesbíraných minerálů před výrobou roztodivných pyrotechnických přípravků, jak tomu bylo u většiny mých kolegů na gymnáziu, rozhodoval jsem se po započetí studia odborné chemie na PŘF UK v Praze pouze mezi chemií anorganickou, která stále ještě odrážela perspektivnější variantu světa krystalů mých oblíbených minerálů, a mezi chemií analytickou. Potud na vysvětlenou, kterak jsem našel zalíbení v analytické chemii. Dlužno ještě podotknout, že pedagogické nadšení, které je pro vědeckou práci na vysoké škole neméně důležité než odborná způsobilost, jsem zdědil po svém otci, který sám vyučuje chemii na základní škole a jehož nespornými pedagogickými kvalitami jsem byl nejen v průběhu své docházky do základní školy, ale i v kruhu rodinném, formován a veden k lásce k přírodním vědám.

To, co mi v dnešní době u vysokoškolských studentů analytické chemie chybí především, je právě ten vřelý

vztah k chemii a přírodním vědám obecně. Naši pedagogové nás s neutuchajícím zájmem zasvěcovali do tajů chemie, fyziky a matematiky, o které často prohlašovali, že je to královna mezi vědními disciplínami, a já jsme se k ní také s tímto respektem choval. Přesto, že dnešním světem vládne výpočetní technika, která dokáže lidem pomoci při řešení složitých matematických operací a výpočtů, nachází dnešní mladiství ve světě informačních technologií spíše zábavu, než-li užitečného pomocníka pro každodenní život. U studentů středních škol, se kterými mám možnost se v posledních letech pravidelně setkávat, však tento plamen touhy po poznání opět spatřuji – někdy prozatím jen v malých jiskřičkách, avšak většinou v míře mnohem větší než u mnohých studentů vysokoškolských.

Právě z těchto důvodů spatřuji práci se studenty středních škol, ať již při teoretickém řešení problémů nebo při praktickém laboratorním bádání, za oboustranně přínosnou a pro další zkvalitňování budoucí vědecké populace za nezbytnou. Naše spolupráce se studenty středních v současnosti probíhá na úrovni tří dlouhodobých projektů – SOČ<sup>1</sup>, Cesta k vědě<sup>2</sup> a Otevřená věda II<sup>3</sup>.

SOČ je projektem, do kterého je naše pracoviště (UNESCO laboratoř elektrochemie životního prostředí<sup>4</sup>) zapojeno již po několik let. SOČ je spojena především se spoluprací se studenty z MSSCH. Některá z témat poslední doby byla zmíněna ve výše uvedeném výčtu loňských účastníků. Z minulých let jistě také stojí za pozornost práce SOČ studentek MSSCH, Lucie Vaňkové a Lucie Maixnerové (obě letos úspěšně dokončily svá vysokoškolská studia na VŠCHT v Praze a na PŘF UK v Praze), která byla též publikovaná v Chemických listech pod názvem *Volta-metrické stanovení submikromolárních koncentrací 3-nitrofluoranthenu a pendimethalinu na stříbrné pevné amalgámové elektrodě*<sup>5</sup>.

I v dnešní době se snažíme výsledky studentů zapojených do SOČ předkládat široké vědecké obci, o čemž svědčí např. prezentace výsledků loňských účastníků SOČ (Marcely Kotasové a Adama Málka) na mezinárodní konferenci *Súčasný stav a perspektivy analytické chemie v praxi*<sup>6</sup> v květnu letošního roku v Bratislavě. Pro akademický rok 2010/2011 se podařilo pro spolupráci na SOČ získat z MSSCH hned pět zájemců, pro které jsou připravena témata z elektroanalytické chemie environmentálních polutantů, pesticidů a léčiv, při jejichž řešení budou nejen vyvíjeny nové citlivé metody stanovení těchto látek, ale bude též zkoumána podstata jejich elektrochemických přeměn a jejich pozitivní či negativní vliv na biogenní struktury živých soustav. Zároveň budou v následujícím roce do soutěže SOČ přihlášeny práce středoškolských studentů, kteří v našich laboratořích od začátku roku 2010 již vypracovávají své práce v rámci projektů Cesta k vědě a Otevřená věda II.

Cílem projektu Otevřená věda II je zlepšení a vzrůst lidského potenciálu v dlouhodobě oslabených vědeckých oborech<sup>3</sup>. Projekt započal 1. září 2009 a potrvá do 31. srpna 2012. V rámci tohoto projektu se do spolupráce s našim pracovištěm zapojila řada středních škol z různých regionů

Čech. První výsledky těchto spoluprací již také byly představeny na mezinárodní elektrochemické konferenci v německé Bochumi<sup>7</sup> v září tohoto roku. Při přihlašování studentů středních škol do projektu hraje důležitou roli jejich domácí střední škola, která plní roli pomyslného garanta kvality vysílaných studentů, a z vlastní zkušenosti mohu říct, že studenti s námi spolupracující mají značný všeobecný přehled a chemické znalosti a dovednosti takových kvalit, že by se za ně nemusel stydět leckterý absolvent školy vysoké. Druhou a neméně důležitou roli mají v projektu Otevřená věda II jeho zakládající složky (především pak AV ČR), ze kterých je celý projekt také financován, a to nejen na straně vysokých škol, ale také částečně na straně studentů středních škol samotných (projekt Otevřená věda II byl schválen v rámci Operačního programu *Vzdělávání pro konkurenceschopnost*, spolufinancovaného ze státního rozpočtu České republiky a Evropského sociálního fondu; registrační číslo projektu CZ.1.07/2.3.00/09.0034)<sup>3</sup>. Touto cestou bych rád poděkoval výše uvedeným organizacím za podporu projektu Otevřená věda II s vyslovenou nadějí, že vynaložené prostředky budou do budoucna přetaveny v mnohem hodnotnější potenciál, než je prvotní potenciál finanční, a to v perspektivní potenciál lidský.

Jistě nebudu prvním a ani posledním, který budoucnost vědy, a prakticky i celého progresivního školství a vzdělávání, vidí v práci s jednotlivci již ve věku jejich dospívání. Na tyto věkové skupiny by se měla především upřít snaha nejen nás, vědeckých pracovníků, ale také pedagogů na středních a základních školách a, v neméně významné míře, také samotných rodičů. Vždyť již prof. Jaroslav Heyrovský, první a bohužel zatím i jediný český laureát Nobelovy ceny za chemii, pravil: „Pokrok vědy spočívá především na mladých lidech. Ti musí dostat všemožné podněty, aby našli ve vědě svou perspektivu.“

## 6. Závěr

Z výše uvedených úvah je patrné, že i dnes lze nalézt mladé lidi se zájmem o chemii a vhodným způsobem stimulovat tento zájem i jejich další odborný rozvoj. A to navzdory negativnímu obrazu chemie, který bohužel v naší společnosti převládá. Je na nás, učitelích chemie na všech stupních, zda dokážeme tento negativní obraz přeměnit na obraz chemie jako celospolečensky nesmírně užitečné, a navíc krásné a vzrušující disciplíny. Doufejme, že se nám k tomu podaří úspěšně využít i nastávající rok chemie vyhlášený UNESCO. Bylo by škoda této příležitosti nevyužít.

*Na tomto místě se sluší poděkovat MŠMT ČR za finanční podporu projektů MSM0021620857, LC 06035, RP 14/63 a CSM 8/3 UK 2009 „Podpora individuálního rozvoje talentovaných studentů všech stupňů a uplatnění mladých pracovníků po dokončení doktorandského studia v přírodních vědách“, bez nichž by výše zmíněné práce středoškolských studentů nemohly být realizovány.*

## LITERATURA

1. <http://www.soc.cz/>, staženo 1. září 2010.
2. <http://veda.gymjs.net/>, staženo 1. září 2010.
3. <http://www.otvarena-veda.cz/>, staženo 1. září 2010.
4. <http://cs-cz.facebook.com/pages/Prague-Czech-Republic/UNESCO-Laboratory-of-Environmental-Electrochemistry/98253656644>, staženo 1. září 2010.
5. Vaňková L., Maixnerová L., Čížek K., Fischer J., Berek J., Navrátil T., Yosypchuk B.: Chem. Listy 100, 1105 (2006).
6. Vyskočil V., Daňhel A., Fischer J., Kotasová M., Málek A., Radová J., Pecková K., Berek J.: Chem. Listy 104, s521 (2010). [http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2010\\_16\\_s401-s534.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2010_16_s401-s534.pdf), staženo 1. září 2010.
7. Vyskočil V., Horáková E., Šmidová D., Berek J.: *Electrochemistry 2010: From Microscopic Understanding to Global Impact, Bochum, 13.-15. září 2010*, Book of Abstracts, str. 210. Gesellschaft Deutscher Chemiker, Frankfurt am Main 2010. <http://>

[web.natur.cuni.cz/~vyskocil/personal/science/bochum2010.pdf](http://web.natur.cuni.cz/~vyskocil/personal/science/bochum2010.pdf), staženo 15. září 2010.

**J. Berek<sup>a</sup>, H. Klímová<sup>b</sup>, V. Vyskočil<sup>a</sup>, and J. Zajíček<sup>c</sup>**  
*(Charles University in Prague, Faculty of Science, <sup>a</sup> Department of Analytical Chemistry, UNESCO Laboratory of Environmental Electrochemistry, <sup>b</sup> Department of Teaching and Didactics of Chemistry, Prague, <sup>c</sup> Masaryk Secondary School of Chemistry, Prague): Scientific Activity at Secondary Schools for Improving the Education of Graduate Analytical Chemists*

The article deals with possible activities in teaching chemistry at secondary schools as presented in education of chemistry graduates and as viewed by a secondary school chemistry teacher and by representatives of both old and young generation of university teachers.

**Proděkan chemické sekce Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze upozorňuje, že  
 v akademickém roce 2011/12  
 je možno studovat v následujících studijních programech/oborech  
 v navazujícím magisterském studiu**

Studijní program: Chemie

Studijní obory:

**Analytická chemie  
 Anorganická chemie  
 Fyzikální chemie  
 Biofyzikální chemie  
 Jaderná chemie  
 Makromolekulární chemie  
 Organická chemie  
 Chemie životního prostředí**

**Modelování chemických vlastností nano- a biostruktur**

**Učitelství chemie a biologie pro SŠ**

**Učitelství chemie a matematiky (UK MFF) pro SŠ**

**Učitelství chemie jednooborové**

Studijní program: Biochemie

Studijní obor:

**Biochemie**

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza

Studijní obor:

**Klinická a toxikologická analýza**

Příhlášky a podrobné informace lze získat na adrese: PŘF UK, studijní oddělení, Albertov 6, 128 43 Praha 2, tel: 221 951 155, 221 951 156. Příhlášky ke studiu se přijímají do 28. února 2011.

**Další informace naleznete na webových stránkách PŘF UK – [www.natur.cuni.cz](http://www.natur.cuni.cz)**

## PROGRAM ERASMUS – BRÁNA DO EVROPY PRO STUDENTY CHEMIE NA PŘÍRODOVĚDECKÉ FAKULTĚ UNIVERZITY KARLOVY V PRAZE

JIŘÍ BAREK<sup>a</sup> a DAVID HAVLÍČEK<sup>b</sup>

Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta,  
<sup>a</sup> Katedra analytické chemie, <sup>b</sup> Katedra anorganické chemie, Albertov 6, 128 43 Praha 2  
barek@natur.cuni.cz

Došlo 30.8.10, přijato 5.10.10.

Klíčová slova: Erasmus, zahraniční spolupráce, zahraniční pobyty studentů

### Obsah

1. Úvod
2. Koncepce programu ERASMUS na PŘF UK
3. Typické příklady úspěšných programů
4. Jak dál v programu ERASMUS

### 1. Úvod

Boloňský proces vedl k vytvoření nového celoevropského prostoru pro vysokoškolskou výuku (European Higher Education Area) i společného evropského výzkumného prostoru (European Research Area), přičemž chemie je pochopitelně vzhledem ke svému významu i charakteru v popředí těchto integračních snah. Pedagogická komunita chemické sekce Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze na tento proces pružně zareagovala tím, že po náročném akreditačním procesu získala chemická sekce PŘF UK v Praze právo udělovat prestižní titul Chemistry Eurobachelor a Chemistry Euomaster, dokazující kompatibilitu a srovnatelnost studia chemie na PŘF UK a na špičkových západoevropských univerzitách<sup>1</sup>. Titul Chemistry Eurobachelor je udělován absolventům bakalářského studia Chemie v přírodních vědách, Chemie životního prostředí, Klinická a toxikologická analýza a jednooborového učitelství Chemie se zaměřením na vzdělávání a titul Chemistry Euomaster absolventům magisterského studia ve výše uvedených studijních programech a oborech. Pracovníci chemické sekce PŘF UK se aktivně podílejí i na začínajícím projektu Euro Doctor (PhD Chem)<sup>2</sup> orientovaného na sladování doktorských programů špičkových evropských vysokých škol zaměřených na výuku chemie. Aktivní práce zástupců chemické sekce PŘF UK v European Chemistry Thematic Network (ECTN)<sup>3</sup> i v projektu Tuning zaměřeném na sladování vysokoškolské výuky obecně<sup>4</sup> výrazně přispívá k intenzivnímu rozvoji mezinárodní spo-

lupráce chemických kateder PŘF UK v oblasti vědecko-výzkumné práce i v oblasti výuky. V současné době je nezbytně nutné, aby se naši studenti dostali do přímého kontaktu s výukou i výzkumem na ostatních evropských vysokých školách chemického zaměření. Jednou z nejvýznamnějších cest k dosažení tohoto cíle je program ERASMUS<sup>5</sup>.

### 2. Koncepce programu ERASMUS na PŘF UK

Je nesporné, že jakýkoliv semestrální pobyt v zahraničí nesmírně přispěje k odbornému i lidskému rozvoji studenta a obohatí ho po všech stránkách. Přesto se domníváme, že určité formy studia v zahraničí jsou z tohoto pohledu efektivnější nežli formy jiné, alespoň z pohledu vysokoškolského učitele chemie. Přes široké možnosti, které program ERASMUS nabízí, se domníváme, že z hlediska studia chemie je optimální zaměřit se na zahraniční pobyty spojené s vypracováním kvalifikačních prací (bakalářské či diplomové) či se zvládnutím nové experimentální problematiky. Záleží však zejména na zájmu a iniciativě každého studenta, kam a jak se vypraví do světa na zkušenou. Chemická sekce PŘF UK se mu pro to vynasnaží vytvořit co nejlepší podmínky. Přehled vybraných pracovišť, s nimiž má chemická sekce PŘF UK úzkou a dlouhodobou spolupráci garantující úspěšný pobyt, je uveden v tabulce I.

### 3. Typické příklady úspěšných programů

Jako příklad typických úspěšných partnerů projektu ERASMUS (pochopitelně subjektivně ovlivněný pracovním zaměřením autorů tohoto příspěvku) lze uvést spolupráci s univerzitou v Regensburgu<sup>6</sup>, v Konyi<sup>7</sup> či v Göteborgu<sup>8</sup> nebo v Ženevě<sup>9</sup>.

Ústav analytické chemie, chemo- a bio senzorů Univerzity v Regensburgu, je největším ústavem svého typu v německé jazykové oblasti. Je zaměřen na vývoj nových analytických metod a nových typů senzorů pracujících na optických, elektrochemických, hmotnostně-spektrometrických a biologických principech a na jejich kombinaci s mikrofluidikou. Úzká spolupráce se skupinou elektrochemických a separačních metod katedry analytické chemie PŘF UK vyústila v řadu úspěšných pobytů našich studentů v Regensburgu i naopak, v řadu společných publikací a jejím logickým vyvrcholením je podepsaná dohoda o společném doktorském programu (PhD) v oblasti analytické chemie mezi oběma univerzitami. Tato úspěšná spolupráce je založena nejen na odborných kvalitách obou pracovišť, ale i na geografické blízkosti a kulturně-historické spřízněnosti obou starých měst a jejich historických univerzit. Pozitivní „personal chemistry“ a mimořádně dobré mezilidské vztahy mezi oběma pracovišti jistě rovněž usnadňují život našim studentům v Regensburgu a naopak.

## Tabulka I

Přehled vybraných zahraničních pracovišť, na nichž proběhly úspěšné pobyty studentů chemických oborů PřF UK v rámci programu ERASMUS ve školním roce 2009/2010 a 2008/2009

Pracoviště	Obor	www
Université de Mons-Hainaut (Belgie)	Analytická chemie	<a href="http://portail.umons.ac.be/EN/Pages/default.aspx">http://portail.umons.ac.be/EN/Pages/default.aspx</a>
Universitat de Valencia (Španělsko)	Analytická chemie	<a href="http://www.uv.es/~webuv/">http://www.uv.es/~webuv/</a>
Selcuk Universitesi Konya (Turecko)	Analytická chemie, Anorganická chemie	<a href="http://www.selcuk.edu.tr/english/">http://www.selcuk.edu.tr/english/</a>
University of Regensburg (Německo)	Analytická chemie	<a href="http://www.uni-regensburg.de/Universitaet/welcome2.html">http://www.uni-regensburg.de/Universitaet/welcome2.html</a>
Université de Bordeaux (Francie)	Fyzikální a makromolekulární chemie	<a href="http://www.univ-bordeaux.fr/">http://www.univ-bordeaux.fr/</a>
University of Glasgow (Velká Británie)	Organická chemie	<a href="http://www.gla.ac.uk/">http://www.gla.ac.uk/</a>
Universitat Jaume I, Castelló, (Španělsko)	Organická chemie	<a href="http://www.uji.es/UK/basic/">http://www.uji.es/UK/basic/</a>
Universita degli studi di Cagliari (Itálie)	Anorganická chemie	<a href="http://www.unica.it/index.jsp">http://www.unica.it/index.jsp</a>
Chalmers University of Technology, Göteborg (Švédsko)	Anorganická chemie	<a href="http://www.chalmers.se/en/">http://www.chalmers.se/en/</a>
Université de Genève (Švýcarsko)	Anorganická chemie	<a href="http://www.unige.ch/index.html">http://www.unige.ch/index.html</a>
Comenius University in Bratislava (Slovensko)	Analytická chemie	<a href="http://www.uniba.sk/">http://www.uniba.sk/</a>

Druhým příkladem spíše z opačné strany spektra je dlouholetá úspěšná spolupráce se Selcuk University ve středotureckém městě Konya<sup>7</sup>. Tato univerzita patří sice k mladším, ale personálně i instrumentálně silným a finančně neobyčejně dobře dotovaným tureckým univerzitám, jejichž podporu ze strany státu jim můžeme jenom závidět. I v tomto případě již řadu let úspěšně probíhá výměna studentů i pedagogů. Možnost seznámit se nejen po odborné, ale i po kulturně-historické stránce s úžasným tureckým prostředím, jeho antickými památkami a svébytnou kulturou může být jistě cenným přínosem pro odborný i lidský rozvoj našich studentů.

Katedra anorganické chemie je pracovištěm mimo jiné zaměřeným na rentgenostrukturní analýzu a difrakční metody obecně. I když je toto pracoviště v současné době velmi dobře vybaveno jak monokrystalovým, tak práškovým difraktometrem, je zahraniční spolupráce v tomto náročném a rychle se rozvíjícím oboru nezbytná a přínosná. Proto jsou kontakty např. s Chalmers University of Technology tak ceněny. Tato univerzita představuje světovou špičku zejména v oblasti rentgenostrukturní analýzy, a proto si velmi ceníme možnosti našich studentů zdokonalovat se na ní v tomto oboru. Spolupráce v rámci progra-

mu Erasmus navíc zahrnuje i přednáškové pobyty zahraničních profesorů, které jsou značným přínosem i pro ty studenty, kteří se přímo studijních pobytů nezúčastní.

Ne všechny látky však lze připravit ve formě monokrystalů. Celá řada materiálů, které mají široké technologické využití, je polykrystalických. Protože je stanovení struktury polykrystalických látek velmi obtížným úkolem, velmi si ceníme spolupráce s Univerzitou v Ženevě, jejíž „Laboratoř krystalografie“ představuje světovou jedničku v tomto oboru. Z této dílny dnes pocházejí nejlepší programy k řešení struktur z práškových dat. Vzhledem k vysokým nárokům, které jsou kladeny na studium tohoto oboru, je možnost studia na tomto prestižním pracovišti otevřena zejména našim studentům doktorského studia.

Program Erasmus umožňuje jak pobyty našich studentů a pedagogů v zahraničí, tak pobyty zahraničních studentů u nás. Vedle již zmíněných tureckých studentů přijatých katedrou analytické chemie je třeba připomenout studenty přijaté např. katedrou organické chemie ze Skotska a ze Slovinska, katedrou fyzikální a makromolekulární chemie ze Španělska, Francie a Slovinska, katedrou biochemie z Holandska, či katedrou anorganické chemie z Itálie.

#### 4. Jak dál v programu ERASMUS

Pracovníci chemické sekce cítí povinnost zajistit svým studentům optimální start do jejich profesní kariéry umožněním odborných pobytů na špičkových evropských pracovištích. Proto nešetří čas, námahu ani počítače, aby v maximální možné míře umožnili využívat program ERASMUS všem studentům chemických oborů, kteří o něj projeví zájem. Dobré mezinárodní kontakty, špičkové renomé chemické sekce PĚF UK, která je podle scientometrických kritérií nejlepším pracovištěm svého druhu v bývalém východním bloku, a zejména dobré mezilidské vztahy, které na této sekci panují, proto vytváří ty nejlepší předpoklady. Rádi touto cestou vyzýváme všechny perspektivní zájemce o libovolnou chemickou disciplínu, aby svou přihláškou na naší fakultu iniciovali řetěz událostí, který povede k jejich odborně úspěšnému, obecně zajímavému a lidsky příjemnému pobytu na vybraném zahraničním pracovišti.

*Autoři děkují touto formou MŠMT ČR za finanční podporu projektů MSM 002162085 a RP 14/63, které umožňují rozvoj mezinárodní spolupráce v oblasti chemie na špičkové úrovni a vytváří předpoklady pro zájem zahraničních studentů o návštěvu naší fakulty. Dále patří náš dík pracovníkům Evropské kanceláře RUK, kteří nesou hlavní díl administrativní zátěže spojené s úspěšnou realizací programu Erasmus.*

#### LITERATURA

1. Barek J.: Chem. Listy 102, 914 (2008).
2. <http://ecampus.chem.auth.gr/PhDChem/>. Staženo 2.9.2010.
3. <http://www.ectn.net>. Staženo 2.9.2010.
4. <http://tuning.unideusto.org/tuningeu/>. Staženo 2.9.2010.
5. <http://www.cuni.cz/UK-39.html>. Staženo 2.9.2010.
6. <http://www-analytik.chemie.uni-regensburg.de/en/>. Staženo 2.9.2010.
7. [http://fen.selcuk.edu.tr/kimya/abd\\_en.html](http://fen.selcuk.edu.tr/kimya/abd_en.html). Staženo 2.9.2010.
8. <http://www.chalmers.se/en/>. Staženo 2.9.2010.
9. <http://www.unige.ch/index.html>. Staženo 2.9.2010.

**J. Barek<sup>a</sup> and D. Havlíček<sup>b</sup>** (*Charles University in Prague, Faculty of Science, <sup>a</sup> Department of Analytical Chemistry, <sup>b</sup> Department of Inorganic Chemistry, Prague*): **ERASMUS Program – The Gate to Europe for Chemistry Students at Faculty of Science of Charles University in Prague**

The opportunities and achievements of ERASMUS program for the international exchange of chemistry students at Charles University in Prague are outlined. Selected cooperating institutions are briefly characterized and the opportunities of chemistry study are reviewed.



TEVA CZECH INDUSTRIES S.R.O.

Společnost **Teva Czech Industries s.r.o.** se sídlem v Opavě, dříve známá jako IVAX a Galena, je významným výrobcem generických léčivých přípravků, účinných farmaceutických látek a rostlinných extraktů s tradicí farmaceutické výroby od roku 1883. Produkty splňují standardy kvality trhů EU i USA, více než 80% své produkce společnost vyváží. V r. 2006 se společnost stala součástí nadnárodní skupiny Teva, patřící mezi 15 globálně nejvýznamnějších farmaceutických společností a současně je největší generickou farmaceutickou společností na světě.

Hledáme zkušené odborníky – farmaceuty a chemiky s praxí ve farmaceutickém a chemickém odvětví, ale rovněž absolventy oborů organická a analytická chemie, farmacie.

Aktuální volná místa najdete na:

[www.tevapharm.cz](http://www.tevapharm.cz)

Nabízíme příležitost zajímavé práce ve stabilní a globálně operující společnosti, která je pevně strategicky integrovaná do významné světové korporace. Dobře si uvědomujeme, že největším bohatstvím firmy jsou její zaměstnanci.

#### Ptejte se:

Mgr. Blanka Rinasová

telefon: 553 642 424

mobil: 602 725 903

e-mail: [blanka.rinasova@tevapharm.cz](mailto:blanka.rinasova@tevapharm.cz)

## RECENZE



M. R. Bleavins, C. Carini,  
M. Jurima-Romet,  
R. Rahbari:  
**Biomarkers in Drug  
Development: A Handbook  
of Practice, Application, and  
Strategy**

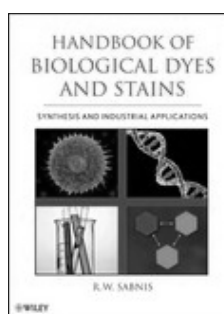
John Wiley & Sons, Inc. Hoboken,  
New Jersey, 2010, pevná vazba, 744  
stran, cena 128,40 Euro.  
ISBN: 978-0-470-16927-8

Kniha předních expertů farmaceutického výzkumu se zabývá jedním z nejžhavějších témat dnešní doby, a to použití biomarkerů ve vývoji léků. Význam biomarkerů v této oblasti stále více roste zejména díky neustále se zvyšujícím požadavkům na vyšší specifitu, bezpečnost, účinnost a přijatelnou cenu léků. Velice pěkně graficky vybavená kniha přináší základní informace např. o případových studiích, snížení výrobní ceny a vhodnějšímu výběru látek pro konkrétní případy. Kniha je určena zejména pro kliniku, biologie a techniky zabývající se vývojem a výrobou léků zahrnujících biomarkery.

Příručka je rozdělena do osmi částí, přičemž hned v první kapitole se čtenář dozví něco málo o historii biomarkerů, zejména to, že nejsou zrovna novým objevem. Části knihy jsou rozděleny celkem do 38 kapitol, které se poměrně výrazně liší svým rozsahem a každá je napsána jinou skupinou autorů. V první části je detailně zpracován přehled biomarkerů a jejich role ve vývoji léků. Druhá část pojednává o technologických nezbytných pro rozpoznání nových biomarkerů. Následují kapitoly o charakterizaci a validaci léků a diagnostických procesech. Nechybí informace o aplikacích biomarkerů, klinických testech a translační medicíně. V poslední části příručky se čtenář dočte o personalizované medicíně a etickém kodexu. Na knize spolupracovalo celkem 82 autorů, což svědčí o velice kvalitním zpracování jednotlivých témat.

Za velké plus této knihy se dá považovat souhrn na konci většiny kapitol, přehledná schémata a četná řada referencí k jednotlivým tématům, ze kterých lze dále čerpat. Kniha je koncipována víceméně pro odborníky, zejména díky řadě ne úplně familiárních metod, které jsou v každé kapitole zmíněny a velkému množství použitých zkratk. Když přehlednu fakt, že knih podobného zpracování a stejnou tematikou existuje na trhu z poslední doby hned několik, mohu díky velice kvalitnímu zpracování knihu určitě doporučit.

*Silvie Rimpelová*



R. W. Sabnis:  
**Handbook of Biological Dyes  
and Stains: Synthesis and  
Industrial Applications**

John Wiley & Sons, Inc. Hoboken,  
New Jersey, 2010, pevná vazba, 521  
stran, cena 120,60 Euro.  
ISBN: 978-0-470-40753-0

Kniha napsaná předním expertem na biologická barviva R. W. Sabnisem je přehlednou a velice komplexní příručkou o více než 200 do této doby známých a dostupných barvivech využitelných v biologii, medicíně a v průmyslu. Tato příručka je naprosto unikátní zejména díky tomu, že do současné doby na trhu neexistovala žádná takto souhrnná kniha o barvivech, která by obsahovala informace zároveň o jejich aplikacích i o jejich chemických vlastnostech, toxicitě a nežádoucích vedlejších účincích. R. W. Sabnis je patentovým agentem firmy Pfizer Inc., New Jersey a mimo jiné je také autorem knihy „*Handbook of Acid-base indicators*“.

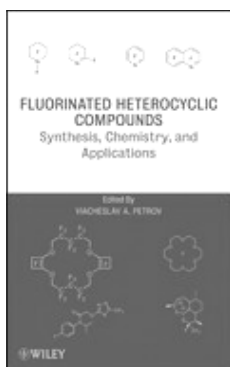
Co se jednotlivých barviv popisovaných v této knize týká, jsou řazena v abecedním pořádku podle svého nejpoužívanějšího názvu a čtenář se o nich dozví poměrně detailní informace zahrnující registrační číslo CAS (z angl. „Chemical Abstracts Service“), třídu barviva, rozpustnost, bod tání, bod varu, pH rozsah použití, barevné odlišnosti při změnách pH, maxima absorpce a emise, toxicitu, ale hlavně jednotlivé aplikace, a to jak v biologii, histologii, cytologii, medicíně, mikroskopii, chemii či v průmyslu. Nechybí samozřejmě ani chemické vzorce jednotlivých látek, sumární vzorce či molekulové hmotnosti. Co považuji za značnou výhodu zpracování této příručky, je nesčetné množství referencí (až 70 odkazů pro jedno barvivo) k jednotlivým sloučeninám, kde se můžete dočíst o syntéze vámi vybrané látky, a to jak v laboratorním, tak v průmyslovém měřítku, chemických a fyzikálních vlastnostech, anebo o jejím konkrétním použití při barvení. Dalším unikátem této knihy jsou jistě nezanedbatelné informace o různých formách toxicity sloučenin, nicméně ne ve všech případech jsou tato data uvedena. Zajímavostí této knihy je také několik rejstříků na jejím konci, ve kterých jsou barviva rozdělena mimo jiné podle svého použití, a to jako indikátory kovů, pH, nukleových kyselin, jednotlivých organel apod. Co v knize naopak postrádám, jsou barevné přílohy konkrétního využití vybraných barviv, např. mikroskopické snímky, díky nimž by si čtenář mohl vytvořit ucelenější představu.

Knihu lze rozhodně doporučit jako velice hodnotný zdroj informací, zejména z hlediska počtu referencí,



o používaných barvivech každé byt' jen trochu biologicky zaměřené laboratoři, lékařům, chemikům a využití nalezne jistě i u materiálových inženýrů.

Silvie Rimpelová



Viacheslav A. Petrov:  
**Fluorinated Heterocyclic  
Compounds – Synthesis,  
Chemistry,  
and Applications**

J. Wiley & Sons 2009, 1. vydání,  
516 stran, cena 109 Euro  
ISBN: 978-0-470-45211-0

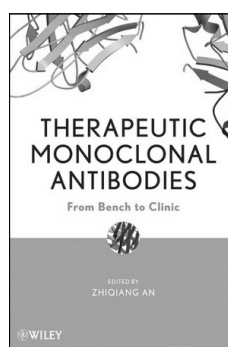
Fluorované sloučeniny hrají dnes nezastupitelnou úlohu v technologii i medicíně. Zajímavou podskupinou

těchto látkou jsou fluorované heterocykly, vykazující často biologickou aktivitu. Předkládaná kniha mapuje jejich syntesu, přičemž ukazuje syntetické postupy pro tři až sedmičlenné kruhy. Zvláštní pozornost je věnována přípravě fluorovaných pyridinů. Speciální kapitoly pojednávají o zavádění perfluorovaných alkylových zbytků na šestičlenné kruhy a přípravě perfluorovaných heterocyklů, ať aromatických, nebo nearomatických.

Podstatnou částí knihy je přehled praktického využití fluorovaných heterocyklů. Zde je důraz kladen právě na využití biologicky aktivních látek. Ty patří v první řadě mezi žádané látky v zemědělství. Je zde možné najít herbicidy, fungicidy i herbicidy. V příslušné kapitole je věnována pozornost nejen jejich struktuře a praktickému využití, ale co je z funkčního hlediska důležité – místu a mechanismu účinku. Následující kapitola o farmaceutickém využití bohužel opouští tuto koncepci – tj. rozdělení látek podle cíle působení, ale vrací se zpět k dělení podle struktury. To je možná jediná slabina této monografie. Farmaceutické substance jsou tak předkládány nikoli podle využití a působení, ale podle velikosti kruhů. Většina předkládaných látek je pak, asi málo překvapivě, tvořena analogy nukleosidů s protivirovými účinky. Kniha je posléze ukončena pojednáním o možnostech využití fluorovaných heterocyklů pro syntesu složitějších struktur – hlavně polymerů. Výraznou roli v tomto ohledu hrají oxirany a oxetany, jejichž výroba a další reakce jsou přehledně zpracovány.

Z celkového pohledu se jedná o obsáhlou, přehlednou a užitečnou příručku, určenou odborníka v oboru. Pro laika, studenta nebo i jen prostého zájemce se bude kniha jevit jistě nepřístupná a je třeba v těchto případech doporučit vhodnější variantu. Pro profesionála z oboru však bude kniha užitečným kompendiem informací, které podstatně zkrátí čas pro nutné rešerše, případně dodá řadu nových podnětů pro vlastní práci.

Jiří Blažek



An, Zhiqiang (ed.):  
**Therapeutic Monoclonal  
Antibodies,  
From Bench to Clinic**

Wiley, 2009, 1. vydání, stran 889,  
cena 152 Euro  
ISBN 978-0-470-11791-0

Biotechnologie měly v medicíně své nezastupitelné místo ještě před dnešním velkým zájmem o „zelené“

postupy nejen v přípravě léků. Nicméně teprve s pochopením souvislosti nemocí na molekulární a genetické úrovni bylo možné tyto postupy využít cíleně a plánovitě. Typickým příkladem je využití protilátek – od prvních Pasteurových pokusů s celými antigeny, přes výrobu polyklonálních sér pro imunizaci organismu až po výrobu monoklonálních protilátek pro specifická nasazení v terapii, analýze a cílení léčiv.

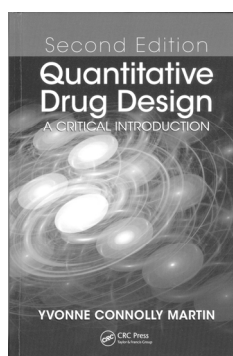
Předkládaná publikace si vzala za cíl zmapovat stav výzkumu a aplikací posledně jmenovaných – tj. monoklonálních protilátek. V osmi široce rozpracovaných oddílech se zájemce může seznámit nejen s výrobou a genetickým inženýrstvím těchto proteinů, ale – a to je velmi podstatné i pro zájemce takřkajíc mimo obor – v prvních dvou oddílech je velmi podrobně, ale přitom čtivě předložen teoretický úvod do celé problematiky (což u specificky zaměřených monografií není vždy zvykem).

Velká část knihy je logicky věnována výrobě a charakterizaci protilátek pro terapeutické účely. Celých pět oddílů z uváděných osmi předkládá aspekty všech myslitelných výrobních postupů, jejich nevýhod i benefitů, možnosti úpravy struktury protilátek pro cílené použití s minimalizačními riziky pro příjemce a popisuje veličiny vyjadřující chování a čistotu produktu. Zkrátka nepřijde ani pojednání o výběru terapeutického cíle a chování protilátek *in vivo*.

Na samotné medicínské aplikace tak překvapivě zbývá pouze jediný oddíl. Na posledních 200 stranách tak čtenář nalezne přehledně rozdělené možnosti aplikace – začínajíc formulací samotného léčiva, což je i v případě klasických organických molekul věda sama o sobě, pokračujíc výčtem již používaných protilátek a nejvýznamnějších kandidátů v klinickém výzkumu a po jednotlivých zastaveních popisujících konkrétní aplikace, končí u velmi zajímavého využití protilátek pro cílený transport léčiv.

I když je samotná publikace velmi obsáhlá a podrobná, rozhodně ji není možné doporučit pouze odborníkům z oblasti medicíny a biotechnologického výzkumu. Svoji úvodní částí, velmi ilustrativní obrazovou přílohou a přehledným zpracováním otevírá tato kniha brány vědění k tomuto oboru i náhodným zájemcům z řad studentů, ale i laiků.

Jiří Blažek



Yvonne Connolly Martin:  
**Quantitative Drug Design:  
 A Critical Introduction**

CRC Press, Taylor & French Group  
 2010; 2. vydání,  
 282 stran, pevná vazba.  
 ISBN 978-1-4200-7099-6

Je tomu již téměř 50 let, kdy Corwin Hansch se svými spolupracovníky publikovali průkopnické práce o kvantitativních vztazích mezi biologickou aktivitou látek a jejich fyzikálně chemickými vlastnostmi, od nichž lze uvažovat počátek moderní éry racionálního přístupu k navrhování a výzkumu nových léčiv. Autorka hodnocené monografie Y. C. Martin je po více než 40 let čelnou představitelkou tohoto moderního trendu navrhování léčiv využívajícího veškeré možnosti výpočetní techniky (CADD, Computer Aided Drug Design). Je tedy logické, že tato autorčina čtyřicetiletá zkušenost ve všech oblastech kvantitativních vztahů mezi strukturou a biologickou aktivitou (QSAR, Quantitative Structure-Activity Relationships) se stala základem této knihy popisující procesy transformace interakcí ligandů s biomakromolekulami na modely umožňující předpověď účinnosti nových molekul.

Řazení jednotlivých kapitol má logickou stavbu, která čtenáře seznamuje s problematikou těchto racionálních metod

- charakterizací hlavních nekovalentních interakcí v biologických systémech,
- přípravou trojrozměrných struktur molekul (pro využití v tzv. 3D QSAR metodách),
- způsoby kvantifikace, po případě výpočty fyzikálně chemických vlastností molekul,
- popisem biologických dat a možnostmi jejich využití,
- zpracováním relevantních údajů pomocí různých matematických modelů – především *vícečetnou lineární regresní analýzou* (MLR, Multiple Linear Regression),

- nelineární regresní analýzou* (NLR, Nonlinear Regression), *analýzou částečných nejmenších čtverců* (PLS, Partial Least Square nebo Projections to Latent Structures) a *analýzou hlavní komponenty* (PCA, Principal Component Analysis) a
- validací těchto vztahů vyhodnocením vhodných statistických kritérií včetně multivariační statistiky a dalších validačních procedur.

V závěrečné kapitole je věnována pozornost nejnovějším postupům k řešení vztahů mezi strukturou a biologickou aktivitou, především metodám založeným na hodnocení podobnosti a rozdílnosti strukturních fragmentů a jejich hierarchickém shlukování a rovněž klasifikačním metodám, které byly v oblasti navrhování léčiv použity, tj. *lineární diskriminační analýze* (LDA, Linear Discriminant Analysis), *metodě nejbližších sousedů* (KNN, K-Nearest Neighbour Prediction) a *metodě SIMCA* (Statistical Isolinear Multiple Component Analysis).

Část monografie autorka věnovala výsledkům své dlouholeté aktivity ve využití různých metod QSAR např. v analýze antibakteriální účinnosti analogů erythromycinu, účinnosti agonistů dopaminu typu substituovaných katecholaminů nebo analgetické aktivity  $\gamma$ -karbolinů. Zvláštní pozornost je v těchto kapitolách věnována využití *3D-QSAR metodě COMFA* (Comparative Molecular Field Analysis).

Monografie je doplněna velmi precizně zpracovaným rejstříkem, který umožňuje rychlou orientaci při vyhledávání detailně popsaných hesel. Témata, která doplňují původní první vydání, jsou doprovázena nejnovějšími literárními odkazy včetně r. 2008.

Knihu lze doporučit odborným pracovníkům, kteří se zabývají navrhováním a výzkumem biologicky aktivních látek, zvláště pak aktivních farmaceutických substancí, neboť poskytuje ucelený a kvalifikovaný výklad jedné z fundamentálních metod racionálního výzkumu originálních léčiv.

Miroslav Kuchař

## ZPRÁVY

### 41. Zasedání Divize analytické chemie Evropské asociace pro chemické a molekulární vědy (Division of Analytical Chemistry of the European Association for Chemical and Molecular Science)

41. výroční zasedání DAC EuCheMS proběhlo 29. srpna 2010 v Norimberku v návaznosti na 3rd EuCheMS Chemistry Congress, což je největší evropské setkání chemiků, které se konalo rovněž v Norimberku ve dnech 29.8.–2.9.2010. Autor tohoto článku přednesl na této konferenci jako jeden z nemnoha českých chemiků ústní referát na téma “New Electrode Materials for Environmental Electroanalysis”. Zasedání DAC se zúčastnili zástupci 23 evropských chemických společností z 19 evropských zemí. Vzhledem k tomu, že vypršelo funkční období dosavadního předsedy prof. Karlberga ze Švédska, byl novým předsedou DAC EuCheMS jednomyslně zvolen profesor Paul Worsfold z Plymouthu, zástupce Royal Society of Chemistry. Dále DAC EuCheMS projednala otázky související s činností DAC, přípravu analytické sekce na 4. Evropském chemickém kongresu v Praze (26.–30. srpna 2012), jehož pořádáním byla pověřena Česká společnost chemická, přípravu konference EUROANALYSIS XVI, která proběhne 11.–15. září 2011 v Bělehradě a kde byl autor těchto řádek jmenován čle-

nem organizačního výboru a byl pověřen přípravou sekce věnované elektroanalytické chemii, konference EUROANALYSIS XVII, která se bude konat ve Varšavě ve dnech 25.–29. srpna 2013 a konference EUROANALYSIS XVIII, o jejíž organizaci v roce 2015 projeví zájem francouzští kolegové v Bordeaux. Je jistě výrazem mezinárodního uznání české analytické chemie a dobrého postavení České společnosti chemické, že autor těchto řádek byl na příští období zvolen členem řídicího výboru DAC EuCheMS.

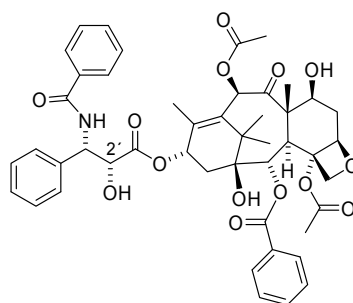
Účast zástupce České společnosti chemické na práci DAC EuCheMS byla umožněna jednak grantem Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky v rámci projektu INGO Projekt LA 10034 (2010) (Reprezentace české analytické chemie v Evropské asociaci pro chemické a molekulární vědy) a jednak laskavou podporou firem Merck s.r.o. Praha a ChromSpec, Praha. Je milou povinností autora poděkovat výše uvedeným firmám za jejich pochopení a podporu aktivit České společnosti chemické a odborné skupiny analytické chemie. Všechny materiály související s činností DAC EuCheMS jsou k dispozici na níže uvedené adrese.

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

## ERRATA

V referátu Deriváty paklitaxelu pro cílený transport cytostatika autorů Marie Příbylové, Marcely Dvořákové a Tomáše Vaňka v minulém čísle (Chem. Listy 104, 1023 (2010)) jsme uveřejnili nesprávný vzorec paklitaxelu. Za chybu se omlouváme a uvádíme správný vzorec.

*redakce*



Obr. 1. Struktura paklitaxelu



Česká společnost chemická  
Sekretariát a redakce Chemických listů  
Novotného lávka 5  
116 68 Praha 1  
tel./fax: 222 220 184, redakce tel. 222 221 778  
e-mail: chem.spol@csvts.cz  
<http://www.csch.cz>

## Proč se stát členem České společnosti chemické

Zapojení v České společnosti chemické, členu Asociace českých chemických společností, přináší individuálním chemikům kromě vlastního členství v největší a nejstarší profesní organizaci chemiků:

- celosvětově uznávanou příslušnost k jedné z nejstarších profesních organizací v chemii na světě,
- možnost zapojení se do práce a komunikace v jedné z místních či odborných poboček ČSCH,
- kontakty, informace, služby, možnosti, uplatnění...
- podstatné slevy u vložného na sjezdech a konferencích, jejichž oficiálním pořadatelem je ČSCH,
- možnost dostávat 4× ročně zdarma tzv. „bulletinové číslo“ Chemických listů,
- možnost objednání předplatného Chemických listů s významnými slevami,
- možnost objednání „osobního balíku předplatného“ Chemických listů a časopisů konsorcia EUChemSoc,
- členské informace o nových knihách, produktech a službách i o připravovaných odborných akcích na celém světě, informace o dění v evropských chemických strukturách
- možnost zažádání o evropskou nostrifikaci chemického vzdělání a odborné praxe spojenou s udělením titulu Eurchem, platného v celé EU,
- přístup ke službám a slevám poskytovaným členskými organizacemi EuCheMS pro členy národních organizací,
- možnost přidruženého členství v IUPAC,
- možnost získání a doporučení členské přihlášky do významných zahraničních chemických společností (RSC, ACS, GDCh, GÖCh, SFC aj.),
- možnost získání příležitostných slev obchodních firem spolupracujících s ČSCH,
- možnost uplatnit informace z vlastní pracovní činnosti (výsledky, novinky, inzerce, tisková oznámení aj.),
- možnost zveřejnění vlastního oznámení v rubrice Bulletinu Chemických listů „Práci hledají“,
- vedle individuálního členství je možné kolektivní členství firem,
- a řadu dalších služeb.

### Jak se stát členem ČSCH

Členská přihláška je k dispozici na internetových stránkách ČSCH nebo na sekretariátu ČSCH. Členství je přístupné pro všechny zájemce o chemii a přijetí nového člena doporučí dva členové ČSCH (doporučení je možné nahradit odborných životopisem), členství nabývá platnosti po schválení hlavním výborem ČSCH.

Výši členských příspěvků a možné slevy schvaluje na návrh předsednictva hlavní výbor ČSCH.

# Nano Ostrava 2011

2<sup>nd</sup> Nanomaterials and Nanotechnology Meeting  
Nanotechnology Centre, VŠB-TU Ostrava

## Topics

- Tools for preparation and characterization of nanomaterials
- Environment and nanotechnology
- Biotechnology and drug delivery
- Education in nanotechnology
- Advances in nanomaterials

## Deadlines

Registration: **1.3.2011**  
Submission  
of abstracts: **1.3.2011**  
Payment of  
conference fee: **15.3.2011**

[www.nanoostrava.cz](http://www.nanoostrava.cz)

**We look forward to meet you in Ostrava  
April 27–29, 2011**

OBSAH		CONTENTS	
<b>ÚVODNÍK</b>	1138	<b>EDITORIAL</b>	1138
<b>REFERÁTY</b>		<b>REVIEW ARTICLES</b>	
<b>Porézni křemík – moderní nanostrukturní materiál</b>	1140	<b>Porous Silicon – A Modern Nanostructured Material</b>	1140
J. Dian a I. Jelínek		J. Dian and I. Jelínek	
<b>Elektrochemická detekce s elektrodami mimo roztok – znovuzrození bezkontaktních impedančních metod</b>	1148	<b>Electrochemical Detection with Electrodes Outside the Test Solution – The Rebirth of Contactless Impedance Methods</b>	1148
F. Opekar a K. Štulík		F. Opekar and K. Štulík	
<b>Analytická ultracentrifuga a její využití v biochemické laboratoři</b>	1155	<b>Analytical Ultracentrifuge and Its Utilization in Biochemical Laboratory</b>	1155
O. Vaněk a K. Bezouška		O. Vaněk and K. Bezouška	
<b>Cheláty pro využití v biomedicínských oborech</b>	1163	<b>Chelates for Biomedical Use</b>	1163
J. Kotek a I. Lukeš		J. Kotek and I. Lukeš	
<b>Enzymy Hatchova-Slackova cyklu v C<sub>3</sub> rostlinách</b>	1175	<b>Enzymes of the Hatch-Slack Cycle in C<sub>3</sub> Plants</b>	1175
H. Ryšlavá a V. Doubnerová		H. Ryšlavá and V. Doubnerová	
<b>Krása a užitečnost nových elektrodoých materiálů</b>	1181	<b>The Beauty and Usefulness of Novel Electrode Materials</b>	1181
V. Vyskočil, A. Daňhel, J. Fischer, V. Novotný, D. Deýlová, J. Musilová-Karaová, L. Maixnerová, K. Pecková a J. Barek		V. Vyskočil, A. Daňhel, J. Fischer, V. Novotný, D. Deýlová, J. Musilová-Karaová, L. Maixnerová, K. Pecková, and J. Barek	
<b>LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY</b>		<b>LABORATORY EQUIPMENT AND METHODS</b>	
<b>Stanovení ultrastopových koncentrací selenu a arsenu v pitných vodách metodou EchG-QFAAS</b>	1196	<b>Determination of Ultratrace Selenium and Arsenic in Drinking Water by Electrochemical Hydride Generation Coupled with Quartz Furnace – Atomic Absorption Spectrometry</b>	1196
J. Hraníček, V. Červený a P. Rychlovský		J. Hraníček, V. Červený, and P. Rychlovský	
<b>ROZVOJ INSTRUMENTACE A KATEDER PŘF UK PRAHA</b>		<b>DEVELOPMENT OF INSTRUMENTATION AND DEPARTMENTS AT THE CHARLES UNIVERSITY, FACULTY OF NATURAL SCIENCES, PRAGUE</b>	
<b>Katedra organické a jaderné chemie Přírodovědecké fakulty UK v Praze</b>	1204	<b>Department of Organic and Nuclear Chemistry of Faculty of Science of Charles University in Prag</b>	1204
M. Kotora		M. Kotora	
<b>Infračervená a Ramanova spektroskopie na katedrách chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze – od historie k současnosti</b>	1210	<b>Infrared and Raman Spectroscopy in Chemistry Departments of Faculty of Science at Charles University in Prague – from History to the Present</b>	1210
B. Strauch, B. Vlčková a I. Němec		B. Strauch, B. Vlčková, and I. Němec	
<b>Strukturální analýza pevných látek v chemické sekci Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze</b>	1220	<b>Structure Analysis of Solid Materials at Chemistry Departments of Faculty of Science of Charles University in Prague</b>	1220
I. Císařová, P. Štěpnička a I. Němec		I. Císařová, P. Štěpnička, and I. Němec	
<b>Historie, současnost a perspektivy analytických separačních metod na Katedře analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze</b>	1226	<b>The History, Present and Prospects of Analytical Separation Methods at Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science, Charles University in Prague</b>	1226
J. Sobotníková, Z. Bosáková, R. Čabala, P. Coufal, V. Pacáková a K. Štulík		J. Sobotníková, Z. Bosáková, R. Čabala, P. Coufal, V. Pacáková, and K. Štulík	
<b>VÝUKA CHEMIE</b>		<b>EDUCATION IN CHEMISTRY</b>	
<b>Středoškolská odborná činnost - cesta ke zkvalitnění přípravy vysokoškolsky vzdělaných analytických chemiků</b>	1232	<b>Scientific Activity at Secondary Schools for Improving the Education of Graduate Analytical Chemists</b>	1232
J. Barek, H. Klímová, V. Vyskočil a J. Zajiček		J. Barek, H. Klímová, V. Vyskočil, and J. Zajiček	
<b>Program ERASMUS – brána do Evropy pro studenty chemie na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy v Praze</b>	1237	<b>ERASMUS Program – The Gate to Europe for Chemistry Students at Faculty of Science of Charles University in Prague</b>	1237
J. Barek a D. Havlíček		J. Barek and D. Havlíček	
<b>RECENZE</b>	1240	<b>BOOK REVIEWS</b>	1240
<b>ZPRÁVY</b>	1243	<b>NEWS</b>	1243
<b>ERRATA</b>	1243	<b>ERRATA</b>	1243

**CHEMICKÉ LISTY • ročník/volume 104 (2010), čís./no. 12 • LISTY CHEMICKÉ, roč./vol. 134, ČASOPIS PRO PRŮMYSL CHEMICKÝ, roč./vol. 120 • 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 Praha, 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: I. Valterová; Webové stránky: R. Liboska, P. Zámstný • ZAHRANIČNÍ A OBLASTNÍ REDAKTOŘI/ FOREIGN AND REGIONAL EDITORS: F. Švec (USA), L. Opletal (Hradec Králové), P. Tarkowski (Olomouc), Z. Kolská (Ústí nad Labem) • KONZULTANT/ CONSULTANT: J. Kahovec • VÝKONNÁ REDAKTORKA/EDITORIAL ASSISTANT: R. Řápková • REDAKČNÍ RADA/ADVISORY BOARD: M. Černá, L. Červený, E. Dibuszová, J. Hanika, Z. Havlas, I. Kadlecová, J. Káš, M. Koman, J. Koubek, T. Míšek, V. Pačes, O. Paleta, V. Růžička, 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 O PŘEDPLATNÉM, 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: chem.spol@csvts.cz, chem.ekonom@csvts.cz • PLNÁ VERZE NA INTERNETU/FULL VERSION ON URL: <http://www.chemicke-listy.cz> • TISK: Rodomax s.r.o., Rezecká 1164, 549 01 Nové Město nad Metují; SAZBA, ZLOM: ČSCH, Chemické listy • Copyright © 2010 Chemické listy/Česká společnost chemická • Cena výtisku 170 Kč, roční plně předplatné 2010 (12 čísel) 1730 Kč, individuální členské předplatné pro členy ČSCH 865 Kč. Roční předplatné ve Slovenské republice 92 EUR (doručování via SCHS), individuální členské předplatné pro členy ČSCH 70 EUR (doručování via SCHS), 258 EUR (individuální doručování), ceny jsou uvedeny včetně DPH • DISTRIBUTION ABROAD: KUBON & SAGNER, POB 34 01 08, D-80328 Munich, FRG; Annual subscription for 2010 (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 • Molekulární námět na obálce: P. Holý • Dáno do tisku 26.11.2010.**





ČESKÁ SPOLEČNOST CHEMICKÁ

vydává

# CHEMICKÉ LISTY

CHLSAC 104, 1 – 752 (2010)

*Vedoucí redaktor*

*Editor*

B. KRATOCHVÍL

*Redakční kruh*

*Editorial Board*

J. BAREK, Z. BĚLOHLAV, P. DRAŠAR, J. HETFLEJŠ, P. HOLÝ, J. HORÁK, P. CHUCHVALEC,  
J. PODEŠVA, P. RAUCH, J. VOLKE

*Zahraniční a oblastní redaktori*

*Foreign and Regional Editors*

F. ŠVEC (USA), L. OPLETAL (HRADEC KRÁLOVÉ), P. TARKOWSKI (OLOMOUC),  
Z. KOLSKÁ (ÚSTÍ NAD LABEM)

*Redakční rada*

*Advisory Board*

M. ČERNÁ, L. ČERVENÝ, E. DIBUSZOVÁ, J. HANIKA, Z. HAVLAS, I. KADLECOVÁ, J. KAŠ, M. KOMAN, J. KOUBEK,  
T. MÍŠEK, V. PAČES, O. PALETA, V. RŮŽIČKA, I. STIBOR, V. ŠIMÁNEK, R. ZAHRADNÍK

*Technická redaktorka*

*Editorial Assistant*

R. ŘÁPKOVÁ

Ročník 104 (2010)

Volume 104 (2010)

Listy chemické, ročník 134 – Časopis pro průmysl chemický, ročník 120

Str. 1 – 752

ISSN 0009-2770



## Úvodníky

## Editorials

Vážení čtenáři ( <i>J. Ulrichová</i> ) .....	1
Věda, nesmyslně krutá milenka ( <i>P. Rauch</i> ) .....	85
Udržitelný výzkum, vývoj a výuka v oblasti chemie ( <i>J. Barek</i> ) .....	137
Jak podvádět: správná laboratorní praxe ( <i>P. Slaviček</i> ) .....	213
Věda žije! ( <i>J. Macháček, M. Piliarik</i> ) .....	301
Investice v době krize ( <i>J. Podešva</i> ) .....	661
Chemie zpupná a nenáviděná ( <i>K. Wichterle, B. Kratochvíl, H. Čtrnáctová, J. Čech</i> ) .....	753
Chemie v tom není sama ( <i>P. Chuchvalec</i> ) .....	821
Kongresy evropských chemiků ( <i>J. Ulrichová, J. Barek, P. Drašar</i> ) .....	905
Vývoj společenského vnímání rizika spojeného s existencí chemických výroby v okolí bydliště a jeho důsledky na vývoj chemického průmyslu ( <i>J. Horák</i> ) .....	997
Devadesát let Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy ( <i>B. Gaš</i> ) .....	1138
90 let Přírodovědecké fakulty UK v Praze ( <i>R. Zahradník</i> ) .....	1139

## Referáty

## Review Articles

<i>T. Sedláčková, J. Zidková, A. Brázdová, M. Melčová, V. Škop, J. Cibulka a Z. Ulčová-Gallová</i> : Protilátky proti spermii .....	3
<i>K. Balková a Y. Gbelská</i> : Proteiny cytoplazmatické membrány zahrnuté v rezistenci buniek kvasiniek voči chemoterapeutikám .....	7
<i>P. Cibíková, M. Šturdíková a M. Maruna</i> : Přírodní látky rostlinného původu a ich využitie v terapii onkologických ochorení .....	12
<i>L. Okáčová, D. Vetchý, A. Franc, M. Rabiš-ková a B. Kratochvíl</i> : Zvýšení biodostupnosti těžce rozpustných léčivých látek jejich modifikací .....	21
<i>J. Kolář, T. Ambrus a V. Springer</i> : Názvoslovní léčiv se zřetelem na lékopisné názvy .....	27
<i>M. Dienstbier, L. Janková, P. Sladký a P. Dostálek</i> : Metody předpovědi koloidní stability piva .....	86
<i>M. Kamlar, O. Uhlík, L. Kohout, J. Harmatha a T. Macek</i> : Steroidní fytohormony: funkce, mechanismus účinku a význam .....	93
<i>M. Rucki a M. Tichý</i> : Validované počítačové modely – Quantitative Structure – Activity Relationship Tool Box .....	100
<i>M. Maruna, M. Šturdíková a P. Ondřejíčková</i> : Protirakovinové taxánové přírodní látky .....	103
<i>M. Blažková, L. Fukal a P. Rauch</i> : Nebezpečný patogen <i>Enterobacter sakazakii</i> a jeho detekce .....	113
<i>R. Puffr a J. Brožek</i> : Nanokompozity polyamidů s vrstevnatými silikáty .....	138
<i>J. Leitner, M. Hampl, D. Sedmidubský, K. Růžička a P. Svoboda</i> : Termodynamické vlastnosti směsných oxidů v systému CaO-SrO-Bi <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -Nb <sub>2</sub> O <sub>5</sub> -Ta <sub>2</sub> O <sub>5</sub> .....	147
<i>M. Kamlar, O. Uhlík, I. Chlubnová, L. Kohout, J. Harmatha, M. Šanda, R. Ježek, A. Pišvejcová a T. Macek</i> : Využití afinitní chromatografie pro studium působení vybraných oxysterolů u rostlin .....	215
<i>R. Halko, T. Neuročný a M. Hutta</i> : Možnosti kombinácie metod kvapalinovej chromatografie a atómovej spektrometrie na špeciáciu prvkov .....	223
<i>Š. Bidmanová, M. Pohanka, J. Cabal, Z. Prokop a J. Damborský</i> : Biosenzory k včasné detekci otravných látek .....	302
<i>M. Vidová a P. Šmigáň</i> : Unikátné štruktúrne a funkčné vlastnosti A <sub>1</sub> A <sub>0</sub> ATPáz/syntáz z archaea .....	309
<i>E. Šárka a Z. Bubník</i> : Morfológie, chemická štruktúra, vlastnosti a možnosť využiti pšeničného B-škrobu .....	318
<i>R. Cibulka</i> : Flaviny – perspektivní katalyzátory oxidací a redukci .....	326
<i>J. Švrček, P. Kačer, M. Kuzma, A. Marhoul, L. Pánek a L. Červený</i> : Dekontaminační technologie využívající páry peroxidu vodíku .....	662
<i>P. Vítámvás, K. Kosová, Z. Škodáček a I. T. Prášil</i> : Metoda dvourozměrné diferenční gelové elektroforézy (2-D DIGE) a její využití v proteomice .....	671

<i>H. Němčáková, I. Hnízdová, L. Luhová a M. Petřivalský:</i> Nitrované mastné kyseliny – nová skupina signálních molekul .....	756
<i>O. Frank, J. Jehlička, P. Vitek, L. Juha, V. Hamplová a Z. Pokorná:</i> Geochemie fullerenu .....	762
<i>J. Dian a I. Jelínek:</i> Viditelná fotoluminiscence materiálů na bázi křemíku .....	770
<i>J. Tóthová a J. Sádecká:</i> Principy a využití synchronnej fluorescence pri analýze mnohozložkových vzoriek .....	778
<i>Jan Hromádko, Jiří Hromádko, P. Miler, V. Hönig a M. Cindr:</i> Technologie výroby biopaliv druhé generace .....	784
<i>S. Zeman a P. Vávra:</i> Energetické materiály – současnost a trendy vývoje výbušnin .....	791
<i>B. Kratochvíl:</i> Kokrystaly a jejich očekávané farmaceutické aplikace .....	823
<i>M. Pavlík, H. Ryšavá a Z. Wimmer:</i> Metabolismus ekdysteroidů u hmyzu (Insecta) a význam hmyzí střevní mikroflóry .....	831
<i>P. Nádaský a D. Šmogrovičová:</i> Senzorická stabilita piva .....	838
<i>L. Dušek:</i> Čištění odpadních vod chemickou oxidací hydroxylovými radikály .....	846
<i>J. Mlček, O. Rop, K. Šustová, J. Simeonová a R. Gál:</i> Možnosti využití spektroskopie NIR v masném průmyslu ....	855
<i>B. Jakubíková a F. Kovanda:</i> Možnosti využití podvojných vrstevnatých hydroxidů v medicíně .....	906
<i>R. Hůšková, E. Matisová a S. Hrouzková:</i> Hmotnostná spektrometria s negatívnu chemickou ionizáciou a jej využitie v GC-MS analýze organických polutantov .....	913
<i>V. Kočí:</i> Metoda posuzování životního cyklu a chemický průmysl .....	921
<i>M. Krátký a J. Vinšová:</i> Pokroky ve vývoji antituberkulotik působících na multilékově rezistentní kmeny .....	998
<i>P. Grznárová a J. Lipov:</i> Pokroky ve vývoji vakcín proti HIV, tuberkulóze a malárii .....	1006
<i>M. Pivokonský, L. Pivokonská, P. Bubáková a V. Janda:</i> Úprava vody s obsahem huminových látek .....	1015
<i>M. Přibylková, M. Dvořáková a T. Vaněk:</i> Deriváty paklitaxelu pro cílený transport cytostatika .....	1023
<i>P. Horovčák, D. Dugáček a P. Cirbes:</i> Interpretácia chemických vzorcov pomocou webovej služby .....	1029
<i>J. Podešva a J. Kovářová:</i> Možnosti přípravy makromolekulárních antidegradantů pro polymery .....	1034
<i>J. Dian a I. Jelínek:</i> Porézni křemík – moderní nanostrukturální materiál .....	1140
<i>F. Opekar a K. Štulík:</i> Elektrochemická detekce s elektrodami mimo roztok – znovuzrození bezkontaktních impedančních metod .....	1148
<i>O. Vaněk a K. Bezouška:</i> Analytická ultracentrifuga a její využití v biochemické laboratoři .....	1155
<i>J. Kotek a I. Lukeš:</i> Cheláty pro využití v biomedicínských oborech .....	1163
<i>H. Ryšlavá a V. Doubnerová:</i> Enzymy Hatchova-Slackova cyklu v C <sub>3</sub> rostlinách .....	1175
<i>V. Vyskočil, A. Daňhel, J. Fischer, V. Novotný, D. Deylová, J. Musilová-Karaová, L. Maixnerová, K. Pecková a J. Barek:</i> Krása a užitečnost nových elektrodových materiálů .....	1181

## Laboratorní přístroje a postupy

## Laboratory Equipment and Methods

<i>J. Bárta, V. Bártová a V. Čurn:</i> Analýza proteinů pomocí automatické čipové elektroforézy Experion a porovnání s metodou SDS-PAGE .....	33
<i>J. Muselík, K. Krejčová, M. Rabišková, A. Bartošiková, M. Dračková a L. Vorlová:</i> Stanovení tloušťky obalu tablet blízkou infračervenou spektroskopií .....	41
<i>J. Žďárová-Karasová, K. Kuča, D. Jun a J. Bajgar:</i> Užití Ellmanovy metody pro stanovení aktivit cholinesteras při <i>in vivo</i> hodnocení účinků reaktivátorů .....	46
<i>J. Vičar, M. Sural a J. Hlaváč:</i> Separace kvartérních benzo[c]fenanthridinových alkaloidů z <i>Macleaya cordata</i> .....	51
<i>J. Hrivňák a E. Král'ovičová:</i> Nový plynovochromatografický dávkovací priestor pre metódu ihlového adsorpčného koncentratora .....	119
<i>A. Klenovčanová, T. Brestovič a I. Imriš:</i> Využitie fotovoltaiiky na výrobu vodíka elektrolýzou vody .....	122
<i>V. Jurga a M. Kodíček:</i> Limitovaná a pulzní proteolýza lidského hemoglobinu .....	232
<i>M. Novák, A. Synytsya, A. Veselá, G. K. Gomba a J. Čopíková:</i> Polysacharidové komplexy dřevních hub rodu <i>Phellinus</i> a <i>Inonotus</i> .....	236
<i>L. Sabová, E. Chmielewska a K. Gáplovská:</i> Příprava a využitie kombinovaných adsorbentov na zeolitovej báze pri odstraňovaní oxy-aniónových polutantov z vód .....	243
<i>A. Vráňková, T. Škrámlíková, J. Widimský Jr., T. Zelinka, O. Petrák, R. Holaj, B. Štrauch, J. Rosa, J. Škrha a Z. Jůzová:</i> Stanovení metanefrinu a normetanefrinu v krevní plazmě pomocí HPLC s elektrochemickou detekcí .....	251
<i>E. Horniaková, T. Bakalár a M. Búgel:</i> Sledovanie vplyvu posypových solí na procesy v aktivačnej nádrži .....	257
<i>L. Janečková, J. Sobotníková, E. Tesařová a Z. Bosáková:</i> Využití moderních reverzních stacionárných fázi na bázi oxidu zirkoničitého pro analýzu bioaktivních peptidů .....	334

<i>P. Švehla, P. Jeníček, J. Habart, A. Hanč a J. Balík: Testování vlivu vybraných faktorů na průběh nitrifikace kalové vody</i> .....	343
<i>J. Tremlová, J. Száková a P. Tlustoš: Hodnocení možného vlivu rizikových prvků obsažených v půdě na organismus člověka</i> .....	349
<i>G. Laputková, M. Legiš a J. Sabo: Agarová pracovní elektroda jako podklad pre dvojvrstvou lipidovou membránu: Účinky jednosmerného napätia</i> .....	353
<i>Z. Mužiková, M. Pospíšil a G. Šebor: Využití bioethanolu jako pohonné hmoty ve formě paliva E85</i> .....	677
<i>A. Synytsya, E. Lhotáková, J. Čopíková a F. Kvasnička: Enzymová a fluorescenční analýza polysacharidů izolovaných z ječmenu: vliv plísněvé infekce a rozdily odrůd</i> .....	684
<i>T. Karlová, L. Poláková, J. Šmidrkal a V. Filip: Enzymová příprava derivátů mastných kyselin s antimikrobiální aktivitou a jejich využití</i> .....	692
<i>M. Pištěková, V. Otruba a V. Kanický: Analýza vysokopecních strusek optickou emisní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem s laserovou ablací</i> .....	697
<i>R. Vik: Boritan zinečnatý jako náhrada bromovaných retardérů hoření v epoxidových pryskyřicích</i> .....	798
<i>Š. Alušik, V. Jedličková, Z. Paluch a M. Lejsková: Stanovení plasmatických koncentrací kyseliny salicylové při ověřování spolupráce pacienta v léčbě kyselinou acetylsalicylovou</i> .....	803
<i>J. Urminská, J. Porhajašová a P. Ondříšek: Stanovenie koncentrácie Cd, Pb a As princípom prietokovej elektrodémie v sedimentoch, vo vybraných vodných nádržiacch bansko-štiavnického regiónu</i> .....	807
<i>D. Leitnerová, Z. Panovská, A. Váchová a B. Boháčková: Posouzení čichového vnímání prostřednictvím komerčně dostupné sady pachů</i> .....	861
<i>P. Teslová, J. Kalina a O. Urban: Simultánní stanovení obsahu nestrukturních sacharidů a škrobu v listech vyšších rostlin metodou využívající anthronového činidla</i> .....	867
<i>D. Mikulášová, M. Koháryová, P. Štefanková a M. Kollárová: Charakterizácia vlastností a kryštalizácia malát-dehydrogenázy <i>Streptomyces coelicolor A3 (2)</i></i> .....	871
<i>J. Mullerová, S. Hloch a J. Valíček: Zníženie emisií pri spaľovaní biomasy v teplovodnom kotly</i> .....	876
<i>B. Mlynková, E. Hájeková a M. Bajus: Tvorba koksu počas kopyrolýzy individuálnych a zmesných polymérov s primárnym ťažkým benzínom</i> .....	926
<i>P. Májek, J. Krupčík, A. Kočer a M. Gökdere: Stanovenie reziduí vinyl-chloridu v polyvinylchloride plynovou chromatografiou s plameňovoionizačným detektorom a dávkovaním pár statickou metódou</i> .....	934
<i>L. Hochmannová a J. Výtřasová: Vliv nanočástic TiO<sub>2</sub> a ZnO na fotokatalytické a antimikrobiální účinky silikátových nátěrů</i> .....	940
<i>J. Stano, K. Neubert, W. Roos, K. Mičieta, M. Koreňová a V. Blanáriková: Štúdium laktázy v imobilizovaných bunkách a kultivačnom médiu <i>Arabidopsis thaliana</i></i> .....	1040
<i>V. Vojteková, A. Majchrák, D. Mackových a J. Blašková: Vývoj analytickej metódy pre stanovenie hlavných prvkov metódou ED XRF spektrometrie</i> .....	1047
<i>J. Jirout, J. Tríska, K. Růžičková, N. Vrchotová, M. Šimek a D. Elhottová: Porovnání chromatografických metod pro stanovení ergosterolu a jejich využití při analýze půdy podhorské pastviny</i> .....	1053
<i>K. Lehmert: Mikrobiální kontaminace respiračních okruhů</i> .....	1060
<i>J. Hraníček, V. Červený a P. Rychlovský: Stanovení ultrastopových koncentrací selenu a arsenu v pitných vodách metodou EcHG-QFAAS</i> .....	1196

## Rozvoj instrumentace a kateder PŘF UK Praha

## Development of instrumentation and departments at the Charles University, Faculty of Natural Sciences, Prague

<i>M. Kotora: Katedra organické a jaderné chemie Přírodovědecké fakulty UK v Praze</i> .....	1204
<i>B. Strauch, B. Vlčková a I. Němec: Infračervená a Ramanova spektroskopie na katedrách chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze – od historie k současnosti</i> .....	1210
<i>I. Císařová, P. Štěpnička a I. Němec: Strukturní analýza pevných látek v chemické sekci Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze</i> .....	1220
<i>J. Sobotníková, Z. Bosáková, R. Čabala, P. Coufal, V. Pacáková a K. Štulík: Historie, současnost a perspektivy analytických separačních metod na Katedře analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze</i> .....	1226

**Cena Merck****Merck Prize**

<i>P. Novotná M. Urbanová</i> : Konformační studie poly- $\gamma$ -benzyl-L-glutamátu metodou vibračního cirkulárního dichroismu .....	161
<i>V. Mlejová, P. Pavlíková, P. Dobiáš, M. Adam a K. Ventura</i> : Aplikace mikroextrakce tuhou fází pro analýzu bylinných silic .....	166
<i>K. Mališová, O. Mestek, J. Komínková, J. Šantrůček, J. Száková a P. Tlustoš</i> : Frakcionace stopových prvků v listech vrby ( <i>Salix spp.</i> ) .....	172
<i>D. Húska, V. Adam, L. Trnková a R. Kizek</i> : Elektrochemická detekce mRNA izolované z rostlinných pletiv za využití paramagnetických mikročástic .....	177
<i>O. Yosypchuk, K. Pecková a J. Barek</i> : Voltametrické stanovení 1-nitropyrenu a 1-aminopyrenu na borem dopované diamantové filmové elektrodě .....	186
<i>L. Maixnerová, K. Pecková, J. Barek a H. Klímová</i> : Stanovení aminobifenylů v pitné a v říční vodě HPLC s elektrochemickou detekcí pomocí borem dopované diamantové filmové elektrody .....	191
<i>O. Zítka, S. Křížková, V. Adam, A. Horna, J. Kukačka, R. Průša, V. Žížková a R. Kizek</i> : Použití automatizované elektroforézy na čipu pro studium laktoferinu a matrixových metaloproteinás .....	197
<i>P. Žvátora, P. Řezanka, K. Záruba a V. Král</i> : Sledování způsobu vazby modelových látek na nanočástice stříbra .....	202

**Recenze****Book Reviews**

Douglas T. Gjerde, Lee Hoang, David Hornby: RNA Purification and Analysis ( <i>V. Škop</i> ) .....	54
Jiří Jindra: Dějiny elektrochemie v českých zemích 1882–1989 ( <i>J. Balaj</i> ) .....	54
Wolfgang Sippl, Manfred Jung, ed.: Epigenetic Targets in Drug Discovery ( <i>V. Spiwok</i> ) .....	131
Center for Cemical Process Safety (American Institute of Chemical Engineers): Guidelines for Developing Quantitative Safety Risk Criteria ( <i>J. Horák</i> ) .....	131
Patric Coffey: Cathedrals of Science. The Personalities and Rivalries That Made Modern Chemistry ( <i>P. Slaviček</i> ) .....	208
Turkington Robert: Chemicals Used for Illegal Purposes ( <i>P. Drašar</i> ) .....	208
Petr Klán, Jakob Wirz: Photochemistry of Organic Compounds. From concepts to practice ( <i>P. Slaviček</i> ) .....	209
Brian Wardle: Principles and Applications of Photochemistry ( <i>P. Slaviček</i> ) .....	209
Jaroslav Malina a kolektiv: Antropologický slovník aneb co by mohl o člověku vědět každý člověk ( <i>P. Peč</i> ) .....	210
Ludovico Cademartiri a Geoffrey A. Ozin: Concepts of Nanochemistry ( <i>P. Chuchvalec</i> ) .....	210
Straumanis Andrei R.: Organic Chemistry Plus Chemistry Solutions Manual ( <i>P. Drašar</i> ) .....	211
McMurry John E.: Fundamentals of Organic Chemistry ( <i>P. Drašar</i> ) .....	263
Jan Velíšek a Jana Hajšlová: Chemie potravin ( <i>P. Rauch</i> ) .....	263
Pavel Kadlec, Karel Melzoch, Michal Voldřich a kol.: Co byste měli vědět o výrobě potravin? Technologie potravin ( <i>P. Rauch</i> ) .....	264
Jan Vymětal: Informační zdroje v odborné literatuře ( <i>B. Škandera</i> ) .....	265
Bob Baoping He: Two-Dimensional X-Ray Diffraction ( <i>B. Kratochvíl</i> ) .....	704
Frank Peter Helmus: Process Plant Design ( <i>J. Horák</i> ) .....	704
John E. McMurry: Organic Chemistry With Biological Applications ( <i>P. Drašar</i> ) .....	705
John E. McMurry: Fundamentals of Organic Chemistry ( <i>P. Drašar</i> ) .....	705
Groner Bernd (ed.): Peptides as Drugs, Discovery and Development ( <i>P. Drašar</i> ) .....	706
Lambert Didier M. (ed.): Cannabinoids in Nature and Medicine ( <i>P. Drašar</i> ) .....	706
Randall G. Engel, George S. Kriz, Gary M. Lampman, Donald L. Pavia: Introduction to Organic Laboratory Techniques: A Small-Scale Approach ( <i>P. Drašar</i> ) .....	950
Peter Rodgers (ed.): Nanosciences and Technology ( <i>B. Kratochvíl</i> ) .....	950
Axel H. E. Müller, Krzysztof Matyjaszewski (ed.): Controlled and Living Polymerizations. From Mechanisms to Applications ( <i>P. Vlček</i> ) .....	951
Miloslav Černý, Tomáš Trnka, Miloš Buděšínský: Sacharidy ( <i>K. Kefurt</i> ) .....	952
Peter Cragg: A Practical Guide to Supramolecular Chemistry ( <i>P. Drašar</i> ) .....	1064
Louis D. Quin, John Tyrell: Fundamentals of Heterocyclic Chemistry: Importance in Nature and in the Synthesis of Pharmaceuticals ( <i>P. Drašar</i> ) .....	1064

M. R. Bleavins, C. Carini, M. Jurima-Romet, R. Rahbari: Biomarkers in Drug Development: A Handbook of Practice, Application, and Strategy ( <i>S. Rimpelová</i> ) .....	1240
R. W. Sabnis: Handbook of Biological Dyes and Stains: Synthesis and Industrial Applications ( <i>S. Rimpelová</i> ) .....	1240
Viacheslav A. Petrov: Fluorinated Heterocyclic Compounds – Synthesis, Chemistry, and Applications ( <i>J. Blažek</i> ) ...	1241
An, Zhiqiang (ed.): Therapeutic Monoclonal Antibodies, From Bench to Clinic ( <i>J. Blažek</i> ) .....	1241
Yvonne Connolly Martin: Quantitative Drug Design; A Critical Introduction ( <i>M. Kuchař</i> ) .....	1242

## Chemický průmysl

## Chemical Industry

<i>A. Mlčoch</i> : Materiálové technologie .....	261
--	-----

## Zprávy

## News

40. Zasedání Divize analytické chemie Evropské asociace pro chemické a molekulární vědy (Division of Analytical Chemistry of the European Association for Chemical and Molecular Science) ( <i>J. Barek</i> ) .....	130
41. Zasedání Divize analytické chemie Evropské asociace pro chemické a molekulární vědy (Division of Analytical Chemistry of the European Association for Chemical and Molecular Science) ( <i>J. Barek</i> ) .....	1243

## Výuka chemie

## Education in Chemistry

Současné školství a výuka chemie v České republice ( <i>H. Čtrnáctová a J. Zajíček</i> ) .....	811
Nanotechnologie ve výuce přírodních věd ( <i>M. Vaníčková, J. Soukupová a L. Kvítek</i> ) .....	945
Středoškolská odborná činnost – cesta ke zkvalitnění přípravy vysokoškolsky vzdělaných analytických chemiků ( <i>J. Barek, H. Klímová, V. Vyskočil a J. Zajíček</i> ) .....	1232
Program ERASMUS – brána do Evropy pro studenty chemie na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy v Praze ( <i>J. Barek a D. Havlíček</i> ) .....	1237
LIBLICE 2009 – Dodatky .....	59
Konference Sigma-Aldrich, X. Mezioborové setkání mladých biologů, biochemiků a chemiků pořádané firmou Sigma-Aldrich (Devět skal – Žďárské vrchy, 25. – 28. 5. 2010) .....	361
62. sjezd asociací českých a slovenských chemických společností (Pardubice, 28. – 30. 6. 2010) .....	397
POLYSACHARIDY 2010 – 6 <sup>th</sup> International Conference on Polysaccharides – Glycoscience 2010 (Praha, 29. 9. – 1. 10. 2010) .....	881
LIBLICE 2010 (Nymburk, 20. – 22. 11. 2010) .....	1065
Cena MERCK 2010 (České Budějovice, 2. února 2010) .....	s1
16 <sup>th</sup> Radiochemical Conference 2010 (Mariánské Lázně, 18. – 23. 4. 2010) .....	s69
Local Mechanical Properties 2009 (Telč, 11. – 13. 11. 2009) .....	s263
ACP 2010 (Bratislava, 9. – 12. 5. 2010) .....	s399

## Bulletin Asociace českých chemických společností

Lze něčím nahradit radioisotopy $^3\text{H}$ a $^{14}\text{C}$ v biomedicinském výzkumu? ( <i>T. Elbert</i> ) .....	63
Paliva a maziva v počátcích automobilismu ( <i>J. Černý</i> ) .....	269
Člověk a věda ( <i>J. Šesták</i> ) .....	277
Mechanismus heterogenně katalyzované hydrogenace nitrilů ( <i>J. Krupka</i> ) .....	709
Mikroreaktory a vývoj nových technologií ( <i>J. Hanika</i> ) .....	724
Chemie vzniku života ( <i>V. Pačes</i> ) .....	957
Konec dvou chemických legend – tištěných Chemical Abstracts a bází dat Beilstein a Gmelin ( <i>J. Šilhánek</i> ) .....	959
Počátky hmotnostní spektrometrie u nás: hmotnostní spektrometrie v Ústavu fyzikální chemie Akademie věd ( <i>Z. Herman</i> ) .....	962
Ze života chemických společností .....	64, 280, 727, 967
Anglické okénko, horké novinky z chemie .....	68, 280, 730, 975
Odborná setkání .....	71, 282, 727, 969
Akce v ČR a v zahraničí .....	66, 281, 731, 973
Členská oznámení a služby .....	67, 732, 974
Chemik na studiích, cestách .....	73
Zprávy .....	286, 735, 977
Střípky a klípky o světových chemících .....	733
Zákony, které ovlivní život chemiků .....	284, 974
Diskuse .....	286, 981
Bulletin představuje .....	982
Osobní zprávy .....	74, 288, 740, 984
Výročí a jubilea .....	77, 291, 745, 988



## Autorský rejstřík 104 (2010)

## Author Index 104 (2010)

(úv) úvodník, (ref) přehledný referát, (nt) nomenklatura a terminologie, (l) laboratorní přístroje a postupy, (ch.p.) chemický průmysl, (rec) recenze, (d) diskuse, (os.zp.) osobní zprávy, (s) odborná setkání, (v.ch.) výuka chemie, (z) zprávy, (b) bulletin, (cm) cena Merck, (zah) zahrada (zah)

- Adam M.: (cm) 166  
Adam V.: (cm) 177, 197  
Alušík Š.: (l) 803  
Ambrus T.: (ref) 27  
Aranyosiová M.: (b) 71
- Bajgar J.: (l) 46  
Bajus M.: (l) 926  
Bakalár T.: (l) 257  
Balej J.: (rec) 54  
Balík J.: (l) 343  
Balková K.: (ref) 7  
Barek J.: (b) 71, (cm) 186, 191, (ref) 1181, (s) 970, (úv) 137, 905, (v.ch.) 1232, 1237, (z) 130, 1243  
Bárta J.: (l) 33  
Bartošíková A.: (l) 41  
Bártová V.: (l) 33  
Bezouška K.: (ref) 1155  
Bidmanová Š.: (ref) 302  
Blanáriková V.: (l) 1040  
Blašková J.: (l) 1047  
Blažek J.: (rec) 1241  
Blažková M.: (ref) 113  
Boháčková B.: (l) 861  
Bosáková Z.: (l) 334, (ref) 1226  
Brabec V.: (os.zp.) 75  
Brázdová A.: (ref) 3  
Brestovič T.: (l) 122  
Brožek J.: (ref) 138  
Bubáková P.: (ref) 1015  
Bubník Z.: (ref) 318  
Bügel M.: (l) 257
- Cabal J.: (ref) 302  
Cibíková P.: (ref) 12  
Cibulka J.: (ref) 3  
Cibulka R.: (ref) 326  
Cindr M.: (ref) 784  
Cirbes P.: (ref) 1029  
Císařová I.: (ref) 1220  
Coufal P.: (ref) 1226  
Cvak L.: (os.zp.) 290
- Čabala R.: (ref) 1226  
Čech J.: (úv) 753  
Černý J.: (b) 269, (s) 728
- Červený L.: (os.zp.) 740, (ref) 662  
Červený V.: (l) 1196  
Čížek J.: (os.zp.) 76  
Čopíková J.: (l) 236, 684, (s) 283  
Čtrnáctová H.: (úv) 753, (v.ch.) 811  
Čum V.: (l) 33
- Damborský J.: (ref) 302  
Daňhel A.: (ref) 1181  
Deýlová D.: (ref) 1181  
Dian J.: (ref) 1140, 770  
Dibuszová E.: (z) 977  
Dienstbier M.: (ref) 86  
Dobiáš P.: (cm) 166  
Dostálek P.: (os.zp.) 987, (ref) 86  
Doubnerová V.: (ref) 1175  
Dračková M.: (l) 41  
Drašar P.: (b) 727, 967, 983, (os.zp.) 744, (rec) 208, 211, 263, 705, 706, 950, 1064, (s) 728, (úv) 905, (z) 739  
Dugáček D.: (ref) 1029  
Ducháček V.: (os.zp.) 743  
Dušek K.: (os.zp.) 291  
Dušek L.: (ref) 846  
Dvořáková M.: (ref) 1023
- Elbert T.: (b) 63  
Elhottová D.: (l) 1053
- Filip V.: (l) 692  
Fischer J.: (ref) 1181  
Franc A.: (ref) 21  
Frank O.: (ref) 762  
Fukal L.: (ref) 113
- Gál R.: (ref) 855  
Gáplovská K.: (l) 243  
Gaš B.: (úv) 1138  
Gbelská Y.: (ref) 7  
Gökdere M.: (l) 934  
Gomba G. K.: (l) 236  
Grznárová P.: (ref) 1006
- Habart J.: (l) 343  
Hájeková E.: (l) 926
- Halko R.: (ref) 223  
Hampl F.: (os.zp.) 985  
Hampl M.: (ref) 147  
Hamplová V.: (ref) 762  
Hanč A.: (l) 343  
Hanika J.: (b) 724, (z) 738  
Harmatha J.: (ref) 215, 93  
Havlíček D.: (v.ch.) 1237  
Herman Z.: (b) 962  
Hlaváč J.: (l) 51  
Hloch S.: (l) 876  
Hnízdová L.: (ref) 756  
Hochmannová L.: (l) 940  
Holaj R.: (l) 251  
Holčápek M.: (s) 727  
Holzhauser P.: (b) 65, (s) 971  
Hönig V.: (ref) 784  
Horák J.: (os.zp.) 288, (rec) 131, 704, (úv) 997  
Horna A.: (cm) 197  
Horniaková E.: (l) 257  
Horovčák P.: (ref) 1029  
Hraniček J.: (l) 1196  
Hrdlička Z.: (z) 979  
Hrivňák J.: (l) 119  
Hromádko Jan.: (ref) 784  
Hromádko Jiří.: (ref) 784  
Hrouzková S.: (ref) 913  
Hůska D.: (cm) 177  
Hůšková R.: (ref) 913  
Hutta M.: (ref) 223
- Chlubnová I.: (ref) 215  
Chmielewska E.: (l) 243  
Chuchvalec P.: (rec) 210, (úv) 821
- Imriš I.: (l) 122
- Jahn U.: (b) 68, 280, 730, 975  
Jakubíková B.: (ref) 906  
Janda V.: (ref) 1015  
Janečková L.: (l) 334  
Janková L.: (ref) 86  
Jedličková V.: (l) 803  
Jehlička J.: (ref) 762  
Jelínek I.: (ref) 770, 1140  
Jeniček P.: (l) 343  
Ježek R.: (ref) 215
- Jirout J.: (l) 1053  
Juha L.: (ref) 762  
Jun D.: (l) 46  
Jurga V.: (l) 232  
Jůzová Z.: (l) 251
- Kačer P.: (ref) 662, (z) 980  
Kalina J.: (l) 867  
Kamlar M.: (ref) 93, 215  
Kanický V.: (l) 697  
Karlová T.: (l) 692  
Kefurt K.: (rec) 952  
Kinzlová P.: (z) 981  
Kizek R.: (cm) 177, 197, (s) 969  
Klenovčanová A.: (l) 122  
Klímová H.: (cm) 191, (os.zp.) 743, (v.ch.) 1232  
Kočer A.: (l) 934  
Kočí V.: (ref) 921  
Kodíček M.: (l) 232  
Koháryová M.: (l) 871  
Kohout L.: (ref) 93, 215  
Kolář J.: (ref) 27  
Kollárová M.: (l) 871  
Komínková J.: (cm) 172  
Koreňová M.: (l) 1040  
Kosová K.: (ref) 671  
Kotek J.: (d) 286, (ref) 1163  
Kotora M.: (ref) 1204  
Kovanda F.: (ref) 906  
Kovářová J.: (ref) 1034  
Král V.: (cm) 202  
Kráľovičová E.: (l) 119  
Krátký M.: (ref) 998  
Kratochvíl B.: (ref) 21, 823, (rec) 704, (rec) 950, (úv) 753  
Krejčová K.: (l) 41  
Krupčík J.: (l) 934  
Krupka J.: (b) 709  
Křen V.: (os.zp.) 289  
Kříž J.: (s) 728  
Křížková S.: (cm) 197  
Kuča K.: (l) 46  
Kučera J.: (os.zp.) 75  
Kuchař M.: (rec) 1242  
Kukačka J.: (cm) 197  
Kuzma M.: (ref) 662  
Kvasnička F.: (l) 684  
Kvítek L.: (v.ch.) 945

- Laputková G.: (l) 353  
 Legiň M.: (l) 353  
 Lehmert K.: (l) 1060  
 Leitner J.: (ref) 147  
 Leitnerová D.: (l) 861  
 Lejsková M.: (l) 803  
 Lhotáková E.: (l) 684  
 Lichtenberg K.: (s) 282  
 Lipov J.: (ref) 1006  
 Lubojacký J.: (os.zp.) 288  
 Luhová L.: (ref) 756  
 Lukeš I.: (ref) 1163
- Macek T.: (ref) 93, 215  
 Mackových D.: (l) 1047  
 Macháček J.: (úv) 301  
 Maixnerová L.: (cm) 191, 1181  
 Májek P.: (l) 934  
 Majchrák A.: (l) 1047  
 Mališová K.: (cm) 172  
 Marhoul A.: (ref) 662  
 Maruna M.: (ref) 12, 103  
 Mašková E.: (b) 733  
 Matisová E.: (ref) 913  
 Melchová M.: (ref) 3  
 Melzoch K.: (os.zp.) 987  
 Mestek O.: (cm) 172  
 Mičieta K.: (l) 1040  
 Mička Z.: (os.zp.) 74  
 Míkulášová D.: (l) 871  
 Milata V.: (s) 970  
 Miler P.: (ref) 784  
 Míttnerová A.: (z) 735, 981  
 Mlček J.: (ref) 855  
 Mlčoch A.: (ch.p.) 261  
 Mlejová V.: (cm) 166  
 Mlynková B.: (l) 926  
 Motloch P.: (b) 73  
 Mullerová J.: (l) 876  
 Muselík J.: (l) 41  
 Musilová-Karaová J.: (ref) 1181  
 Mužíková Z.: (l) 677
- Nádaský P.: (ref) 838  
 Němčáková H.: (ref) 756  
 Němec I.: (ref) 1210, 1220  
 Neubert K.: (l) 1040  
 Neuročný T.: (ref) 223  
 Novák M.: (l) 236  
 Novotná P.: (cm) 161  
 Novotný V.: (ref) 1181
- Okáčová L.: (ref) 21  
 Ondřejíková P.: (ref) 103  
 Ondříšek P.807: (l) 807  
 Opekar F.: (ref) 1148  
 Otruba V.: (l) 697
- Pacáková V.: (ref) 1226  
 Pačes V.: (b) 957, 984  
 Paleta O.: (b) 65  
 Paluch Z.: (l) 803  
 Pánek L.: (ref) 662  
 Panovská Z.: (l) 861  
 Pavlík M.: (ref) 831  
 Pavlíková P.: (cm) 166  
 Pecková K.: (cm) 186, 191, (ref) 1181  
 Peč P.: (rec) 210  
 Petrák O.: (l) 251  
 Petřivalský M.: (ref) 756  
 Pientka Z.: (z) 736  
 Piliarik M.: (úv) 301  
 Pištěková M.: (l) 697  
 Pišvejcová A.: (ref) 215  
 Pivokonská L.: (ref) 1015  
 Pivokonský M.: (ref) 1015  
 Podešva J.: (os.zp.) 742, (ref) 1034, (úv) 661  
 Pohanka M.: (ref) 302  
 Pokorná Z.: (ref) 762  
 Polák R.: (os.zp.) 76  
 Poláková L.: (l) 692  
 Porhajašová J.: (l) 807  
 Pospíšil M.: (l) 677  
 Prášil I. T.: (ref) 671  
 Prokop Z.: (ref) 302  
 Průša R.: (cm) 197  
 Příbylová M.: (ref) 1023  
 Puffr R.: (ref) 138
- Rabišková M.: (l) 41, (ref) 21  
 Rauch P.: (rec) 263, 264, (ref) 113, (úv) 85  
 Rimpelová S.: (rec) 1240  
 Roos W.: (l) 1040  
 Rop O.: (ref) 855  
 Rosa J.: (l) 251  
 Rucki M.: (ref) 100  
 Růžička K.: (ref) 147  
 Růžičková K.: (l) 1053  
 Rychlovský P.: (l) 1196  
 Rypáček F.: (z) 736  
 Ryšavá H.: (ref) 831, 1175
- Řezanka P.: (cm) 202
- Sabo J.: (l) 353  
 Sabová L.: (l) 243  
 Sádecká J.: (ref) 778  
 Sedláčková T.: (ref) 3  
 Sedmidubský D.: (ref) 147  
 Schröder D.: (d) 981  
 Simeonovová J.: (ref) 855  
 Skála L.: (os.zp.) 76  
 Sladký P.: (ref) 86
- Slaviček P.: (d) 286, (rec) 208, 209, (úv) 213  
 Smutná K.: (z) 286  
 Sobotníková J.: (l) 334, (ref) 1226  
 Soukupová J.: (v.ch.) 945  
 Soural M.: (l) 51  
 Spiwok V.: (rec) 131  
 Stano J.: (l) 1040  
 Strauch B.: (ref) 1210  
 Suchánek M.: (z) 980  
 Svoboda J.: (os.zp.) 985  
 Svoboda P.: (ref) 147  
 Synytsya A.: (l) 236, 684  
 Száková J.: (cm) 172, (l) 349
- Šanda M.: (ref) 215  
 Šantrůček J.: (cm) 172  
 Šarka E.: (ref) 318  
 Šebor G.: (l) 677  
 Šesták J.: (b) 277  
 Ševcová J.: (s) 728  
 Šilhánek J.: (b) 959  
 Šimánek V.: (b) 64, 967, (os.zp.) 986  
 Šimek M.: (l) 1053  
 Škandera B.: (rec) 265  
 Škodáček Z.: (ref) 671  
 Škop V.: (rec) 54, (ref) 3  
 Škramlíková T.: (l) 251  
 Škrha J.: (l) 251  
 Šmidrkal J.: (l) 692  
 Šmigáň P.: (ref) 309  
 Šmogrovičová D.: (ref) 838  
 Špirko V.: (os.zp.) 76  
 Špringer V.: (ref) 27  
 Štefanková P.: (l) 871  
 Štěpnička P.: (ref) 1220  
 Štrauch B.: (l) 251  
 Štulík K.: (ref) 1148, (ref) 1226  
 Šturdíková M.: (ref) 12, (ref) 103  
 Šulcová P.: (b) 968  
 Šustová K.: (ref) 855  
 Švehla P.: (l) 343  
 Švrček J.: (ref) 662
- Tarkowski P.: (b) 72  
 Tesařová E.: (l) 334  
 Teslová P.: (l) 867  
 Tichý M.: (ref) 100  
 Tlustoš P.: (cm) 172, (l) 349  
 Tóthová J.: (ref) 778  
 Tremlová J.: (l) 349  
 Trnková L.: (cm) 177, (os.zp.) 986, (s) 969  
 Tříška J.: (l) 1053
- Uhlík O.: (ref) 93, 215  
 Ulčová-Gallová Z.: (ref) 3  
 Ulrichová J.: (úv) 1, 905  
 Urban O.: (l) 867  
 Urbanová M.: (cm) 161  
 Urminská J.: (l) 807
- Váchová A.: (l) 861  
 Valíček J.: (l) 876  
 Vaněk O.: (ref) 1155  
 Vaněk T.: (ref) 1023  
 Vaničková M.: (v.ch.) 945  
 Vávra P.: (ref) 791  
 Ventura K.: (cm) 166, (s) 728  
 Veselá A.: (l) 236  
 Vetchý D.: (ref) 21  
 Vičar J.: (l) 51  
 Vidová M.: (ref) 309  
 Vik R.: (l) 798  
 Vinšová J.: (ref) 998  
 Vítámvás P.: (ref) 671  
 Vitek P.: (ref) 762  
 Vlček P.: (rec) 951  
 Vlčková B.: (ref) 1210  
 Vojteková V.: (l) 1047  
 Volný M.: (s) 727  
 Vorlová L.: (l) 41  
 Vránková A.: (l) 251  
 Vrchotová N.: (l) 1053  
 Vyskočil V.: (ref) 1181, (v.ch.) 1232  
 Vytřasová J.: (l) 940
- Widimský J. Jr.: (l) 251  
 Wichterle K.: (úv) 753  
 Wimmer Z.: (ref) 831
- Yosypchuk O.: (cm) 186
- Zahradník R.: (úv) 1139  
 Zachař P.: (b) 733  
 Zajíček J.: (v.ch.) 811, 1232  
 Zámotný P.: (b) 983  
 Záruba K.: (cm) 202  
 Zelinka T.: (l) 251  
 Zeman S.: (ref) 791  
 Zemánek F.: (os.zp.) 743  
 Zídková J.: (ref) 3  
 Zítka O.: (cm) 197
- Žďárová-Karasová J.: (l) 46  
 Žížková V.: (cm) 197  
 Žvátora P.: (cm) 202

ČESKÁ SPOLEČNOST CHEMICKÁ

vydává

# CHEMICKÉ LISTY

CHLSAC 104, 753 – 1247 (2010)

*Vedoucí redaktor*

*Editor*

B. KRATOCHVÍL

*Redakční kruh*

*Editorial Board*

J. BAREK, Z. BĚLOHLAV, P. DRAŠAR, J. HETFLEJŠ, P. HOLÝ, J. HORÁK, P. CHUCHVALEC,  
J. PODEŠVA, P. RAUCH, J. VOLKE

*Zahraniční a oblastní redaktori*

*Foreign and Regional Editors*

F. ŠVEC (USA), L. OPLETAL (HRADEC KRÁLOVÉ), P. TARKOWSKI (OLOMOUC),  
Z. KOLSKÁ (ÚSTÍ NAD LABEM)

*Redakční rada*

*Advisory Board*

M. ČERNÁ, L. ČERVENÝ, E. DIBUSZOVÁ, J. HANIKA, Z. HAVLAS, I. KADLECOVÁ, J. KAŠ, M. KOMAN, J. KOUBEK,  
T. MÍŠEK, V. PAČES, O. PALETA, V. RŮŽIČKA, I. STIBOR, V. ŠIMÁNEK, R. ZAHRADNÍK

*Technická redaktorka*

*Editorial Assistant*

R. ŘÁPKOVÁ

Ročník 104 (2010)

Volume 104 (2010)

Listy chemické, ročník 134 – Časopis pro průmysl chemický, ročník 120

Str. 752 – 1247

ISSN 0009-2770

