



Životní prostředí a chemie

Stalo se již tradicí, že říjnové číslo našeho časopisu *Chemické listy* je ve spolupráci s Ministerstvem životního prostředí ČR věnováno vztahu chemie a životního prostředí a zejména možnostem chemie při tvorbě a ochraně životního prostředí. Ze strany České společnosti chemické je cílem tohoto společného projektu ukázat, že chemie není nepřitelem a škůdcem životního prostředí, jak se řada našich spoluobčanů stále mylně domnívá, ale je naopak schopna vytvářet vědecké, metodické i technologické předpoklady pro zlepšování kvality našeho životního prostředí. Lze si jen obtížně představit, že rostoucí nároky naší populace nebudou vytvářet stále větší tlak na životní prostředí. Stále rostoucí požadavky na množství a kvalitu potravin, na levnou energii, pohonné hmoty, nové materiály a technologie mohou snadno ohrozit již tak křehkou a narušenou rovnováhu globálního i regionálních ekosystémů. Trvale udržitelného rozvoje bez tragických důsledků pro naše životní prostředí nelze dosáhnout bez neustálého využívání nejmodernějších vědeckých poznatků. Chemie v této oblasti hraje, a i do budoucna musí hrát, výraznou pozitivní roli. Nemám tím na mysli jen roli analytické chemie, bez jejíž schopnosti sledovat stopová množství nejrůznějších látek v jednotlivých složkách životního prostředí by zřejmě přišli o většinu svých argumentů i ti nejmilitantnější útočníci na chemii jako takovou. Spíše mám na mysli vývoj nových technologií a produktů ohleduplnějších k životnímu prostředí, vývoj nových typů chemických látek schopných plnit požadovanou funkci s menším negativním dopadem na životní prostředí, které by se po skončení své doby životnosti snadno samy rozpadly na produkty neškodné pro životní prostředí, či které by bylo

možno snadno a šetrně zlikvidovat bez velkých finančních, energetických a jiných nároků. Zvýšenou pozornost bude zřejmě nutno věnovat technologiím minimalizujícím možnost různých havárií a nehod, neboť nejčastěji citované příklady dokumentující domněle antagonistický vztah chemie a životního prostředí jsou zpravidla výsledkem selhání lidského faktoru či různých ekonomických tlaků a nikoliv nezbytným výsledkem chemie a její role ve společnosti. Staré ekologické zátěže jsou výsledkem určité společenské a ekonomické situace a nikoliv nevyhnutelným produktem chemie, která se naopak výrazně podílí na rozvoji technologií umožňujících tyto zátěže úspěšně likvidovat. Jestliže chemie má rozhodující podíl na produkci nejrůznějších typů obalových materiálů, které v současnosti tvoří významnou složku komunálního odpadu a perspektivní mimořádnou zátěž pro životní prostředí, pak nabízí i postupy a technologie jejich šetrné a k životnímu prostředí ohleduplné likvidace. Zdá se, že stále významnější roli při ochraně a tvorbě životního prostředí budou hrát nejrůznější zákony a předpisy, ale i nepsaná, avšak o to pečlivěji dodržovaná pravidla. Největším nebezpečím pro životní prostředí totiž není chemie ani žádné jiné průmyslové odvětví, doprava, zemědělství ani žádná jiná rozumně a ohleduplně provozovaná lidská činnost, ale bezohlednost, ať už jednotlivce či některých společností, která může mít na naše životní prostředí snadno tak negativní dopad, že se s ním nebudeme schopni vyrovnat ani s použitím nejmodernějších poznatků často zatracovaných chemických věd.

Jiří Barek

TEPELNÉ ZPRACOVÁNÍ ČISTÍRENSKÝCH KALŮ

MILOSLAV HARTMAN, KAREL SVOBODA,
VÁCLAV VESELÝ, OTAKAR TRNKA
a JOSEF CHOUR

Ústav chemických procesů, Akademie věd České republiky,
Rozvojová 135, 165 02 Praha 6
e-mail: hartman@icpf.cas.cz

Došlo 5.9.02, přepracováno 20.1.03, přijato 15.4.03.

Klíčová slova: čistírenský kal, tepelné zpracování, spalování
ve fluidní vrstvě

Obsah

1. Úvod
2. Charakteristika čistírenských kalů
 - 2.1. Surová odpadní voda
 - 2.2. Vznik a vlastnosti čistírenských kalů
 - 2.3. Zpracování kalů
 - 2.3.1. Zahušťování
 - 2.3.2. Stabilizace
 - 2.3.3. Odvodňování
 - 2.4. Látky přítomné ve stabilizovaných kalech
3. Nakládání se stabilizovanými kaly
4. Hoření stabilizovaných odvodněných kalů
5. Hlavní polutanty a jejich vzájemné souvislosti při hoření kalů
6. Způsoby tepelného zpracování kalů
 - 6.1. Spalování ve fluidní vrstvě
7. Závěr

1. Úvod

Vedlejší – obtížným, avšak nevyhnutelným – produktem každé technologie čištění odpadních vod jsou odpadní kaly. Takto jsou označovány více či méně koncentrované vodné suspenze koloidních a zrnitých částic látek, jak organických, tak i minerálních.

Čistírenský kal je produktem biotechnologického procesu čištění a je tedy nutně velmi zředěný. Produkované objemy jsou enormní a náklady, zejména na jejich přepravu a manipulaci s nimi, jsou mimořádné. Obecnou vlastností kalů je také jejich schopnost vázat na svém povrchu (sorbovat) značné podíly nejrůznějších organických i anorganických látek.

Je příznačné, že produkce čistírenských kalů trvale vzrůstá. Zatímco v roce 1985 činila v zemích EU asi 5 milionů t kalové sušiny za rok, v roce 2000 už to bylo přibližně 9 milionů tun, což odpovídá průměrnému ročnímu nárůstu kolem 0,27 milionu t sušiny¹. Likvidace či nakládání s kaly z čistíren odpadních vod představuje komplexní environmentální pro-

blém mimořádné dimenze, před který je odborná komunita postavena. Zatím se s ním čistírenské závody vypořádávají se značnými obtížemi.

Čistírenské kaly vznikají zpracováním směsi splaškových vod (vod z domácností, objektů společného stravování a ubytování a hygienických zařízení) a průmyslových odpadních vod. Spolu s dešťovou vodou je tato pestrá směs odváděna veřejnou kanalizací do čistírny a označuje se jako surová odpadní voda². Cílem této práce je poskytnout přehled o novějších znalostech a zkušenostech významných pro zneškodňování kalů z městských čistíren odpadních vod především tepelnými procesy.

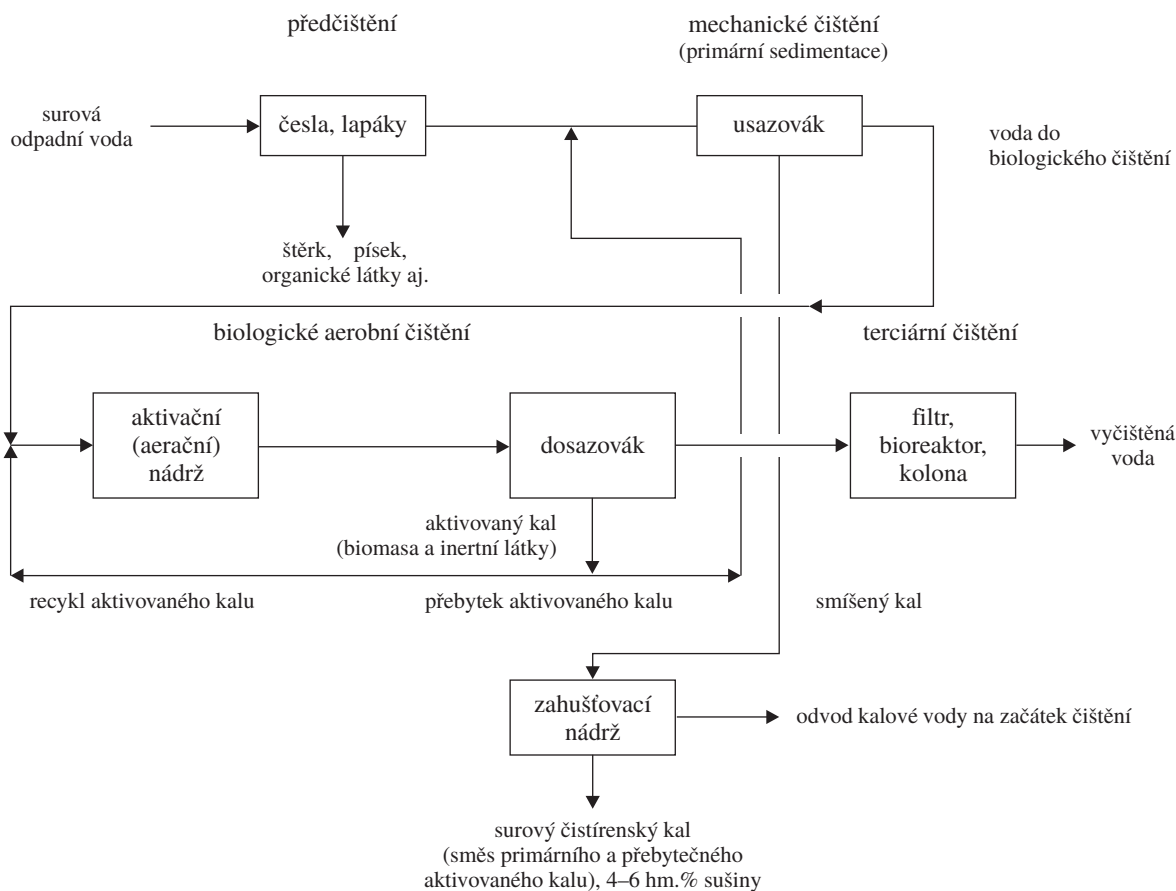
2. Charakteristika čistírenských kalů

2.1. Surová odpadní voda

Rozhodující podíl znečišťujících látek vnášených do odpadních vod pochází z moči (močovina, aminokyseliny, kyselina močová, amoniakální dusík, sodík, draslík, chloridy, sírany, fosforečnany aj.) a z fekálií (zbytky střevních bakterií, lipidy, bílkoviny, polysacharidy a jejich rozkladné produkty, fosforečnany vápenaté a hořečnaté aj.). Dalšími zdroji látek ve splaškových vodách jsou kuchyňské zbytky živočišného i rostlinného původu (tuky, bílkoviny, sacharidy aj.) a složky namáčecích, pracích a čistících prostředků (polyfosforečnany, tenzidy, zeolity, boritany aj.). Znečišťující látky se často třídí na organické a anorganické, na rozpustné a nerozpustné a tyto potom dále na usaditelné a neusaditelné. Z organických látek se v rozpuštěné formě vyskytují především sacharidy, v nerozpuštěné formě hlavně lipidy (např. tuky a vosky) a bílkoviny. Lipidy mají často koloidní charakter a nesedimentují. Biologická rozložitelnost znečišťujících látek široce kolísá. Např. sacharidy, lipidy a mnohé dusíkaté organické látky podléhají biologickému rozkladu poměrně snadno, jiné se rozkládají jen pomalu nebo jsou biologicky zcela rezistentní (látky typu např. polysacharidů a polypeptidů). Pro návrh biologického čištění je nutno znát nejenom celkovou spotřebu kyslíku, ale i její rozdělení do různých rychlých rozkladných procesů.

Směs organických rozpuštěných i nerozpuštěných látek v surové splaškové vodě je možno aproximovat sumárním vzorcem $C_{10}H_{19}NO_3$ (cit.²). Této formuli odpovídá složení v hmotnostních procentech: C – 59,7 %, H – 9,5 %, O – 23,8 % a N – 7 %. Pro růst biomasy (tvorbu aktivovaného kalu) je nutný vhodný poměr C:N:P (BSK₅:N:P = 100:5:1, cit.²). Pro splaškové a městské odpadní vody je charakteristický přebytek jak dusíku, tak i fosforu.

Z pochopitelných důvodů nemohou být odpadní vody vypouštěny do vodních toků: biologický rozklad (transformace, degradace) organických látek spotřebovává mnoho kyslíku a produkuje páchnoucí plyny, voda intenzivně tmavne, jsou přítomny patogenní mikroorganismy a toxické těžké kovy a dochází k nežádoucímu růstu vodních rostlin, podporované přítomností fosforečnanů a amoniakálního i organického dusíku.



Obr. 1. Schéma mechanicko-biologického čištění městských odpadních vod

2.2. Vznik a vlastnosti čistírenských kalů

Jak je známo a zjednodušeně znázorněno na obr. 1, biologické čištění odpadních vod má několik stupňů: 1. předčištění, 2. mechanické čištění (primární sedimentace), 3. aerobní biologické čištění, 4. terciární čištění a zpracování surového kalu (kalové hospodářství).

Na aerobní biologické čištění odpadní vody lze nazírat jako na kontinuální kultivaci směsné kultury s recyklem mikroorganismů v nesterilním prostředí komplexního substrátu (odpadní vody). Tento substrát obsahuje vedle řady rozpuštěných nízkomolekulárních složek též látky nerozpuštěné ve formě jemných a koloidních disperzí. Zatímco odstranění nerozpustných složek koagulací a sorpcí na shlucích (vločkách, nárůstech) mikroorganismů je relativně velmi rychlé, transformace rozpuštěných látek enzymatickými pochody v buňkách probíhá pomalu.

Část organických látek (substrátu) se oxiduje na CO_2 a H_2O . Další podíl se spotřebuje na syntézu zásobních látek (nejčastěji polysacharidy a lipidy) a specifických bílkovin (např. protoplazmy a enzymů). Projevem syntézy je potom růst a množení mikroorganismů. Syntézou nové biomasy se z odpadní vody (substrátu) odstraňuje současně i část dusíku a fosforu.

Aerobní biologické čištění je tedy komplexem vzájemně provázaných fyzikálně chemických a biochemických oxidačních a syntézních pochodů, transformujících biologicky rozložitelné organické látky přítomné v odpadní vodě. Aktivovaný kal je obvykle tvořen jednak biomasou (směsnou kulturou mikroorganismů) a jednak inertními látkami. Z mikroorganismů se v aktivovaném kalu vyskytuje hlavně řada bakterií (včetně nitrifikačních), v menší míře též houby, plísňe a kvasinky. Z vyšších organismů jsou přítomni prvoci aj. Cennou vlastností směsné kultury je lepší flokulace a tím i snadnější sedimentace (separace) aktivovaného kalu, než je tomu u kultur čistých.

Složení surového kalu, jenž je směsí kalu primárního a přebytečného aktivovaného kalu, závisí nejen na složení (původu) odpadní vody, ale i na aplikované technologii. Naproti tomu buněčná hmota mikroorganismů však příliš variabilní kompozici nevykazuje. Přibližné složení sušiny buněčné hmoty v hmotnostních procentech je následující: 50 % C, 32 % H, 9 % N a 2 % P (cit.³). Vedle organických látek obsahuje sušina biomasy mikroorganismů také 6–12 hm.% látek anorganických (popel). Z empirického vzorce $\text{C}_{118}\text{H}_{170}\text{N}_{17}\text{O}_{51}\text{P}$, připisovaného biomase aktivovaného kalu², však plyne hmotnostní složení poněkud odlišné: C – 53 %, H – 6,4 %, O – 30,5 %, N – 8,9 % a P – 1,2 %. Ve srovnání s těmito hodnotami se zdá být podíl vodíku uváděný autory³ příliš vysoký.

Surový čistírenský kal odchází z aerobního biologického čištění ve formě velice zředěné vodné suspenze obsahující přibližně 2–3 hm.% tuhé fáze⁴. Vedle vody obsahuje přebytečný aktivovaný kal i kal primární a je znečištěn surovou odpadní vodou. Velmi významná je také přítomnost patogenických zárodků (bakterie, viry, prvoci, červi aj.). Jakémukoliv nakládání s těmito kaly proto předchází jejich stabilizace (hygienizace), jakož i kroky k redukci jejich velkého objemu, tzn. operace ke snížení velmi vysokého podílu vody v nich. V širší klasifikaci kalů je kal z městských čistíren (ČOV) hodnocen jako kal hydrofilní s vysokým podílem organických látek (60–70 hm.%, cit.³).

2.3. Zpracování kalů

S rychle rostoucími náklady na přepravu i na likvidaci jsou primárními nezbytnými požadavky pro další nakládání s kalem zmenšení jeho objemu (především redukcí podílu vody v kalu) a zásadní zlepšení jeho hygienických a senzorických vlastností.

Vazba vody k tuhé fázi čistírenského kalu je různého charakteru⁵. Obvykle se rozlišuje: 1. volná (mezerová či prostorová) voda, jež se dá z části oddělit působením zemské gravitace (sedimentací), 2. vložková voda zachycená v mezerách kalových částic (vloček) a eliminovatelná mechanickým (strojním) odvodněním, 3. kapilární voda, odstranitelná mechanicky až po chemickém kondicionování, 4. vázaná voda, kterou je možno odstranit až po destrukci buněk.

Separace vody z kalu je vzhledem k jeho disperznímu charakteru nesnadnou operací. Flokulační (koagulační) činidla (např. soli Al, Fe, organické látky, vápno aj.) usnadňují přechod koloidního systému na suspenzi s hrubší disperzí částic, jež je snáze zpracovatelná. Ke zvýšení podílu sušiny nad cca 30–35 hm.% je však již nutné vynaložit tepelnou energii. Avšak i kal velmi dobře vysušený při 105 °C obsahuje ještě kolem 5 hm.% vody. Za sušinu jsou považovány látky zbylé po zahřívání (vysušení) kalu při 105 °C do konstantní hmotnosti. Dominantní část sušiny tvoří suspendované látky, mající pro zpracování kalu rozhodující význam. V malé míře je zastoupena ještě voda a přítomny jsou též sloučeniny rozpuštěné v původní vodě.

Reologické vlastnosti kalu, důležité pro manipulaci a transport, závisí hlavně na obsahu vody (sušiny) a dále také na charakteru kalových částic. Pokud podíl sušiny v zahuštěném kalu nepřekročí přibližně 10 hm.%, zůstává kal tekutý a lze jej čerpat. Další separaci vody (odvodněním) k obsahu sušiny již kolem 20 hm.% se obvykle docílí charakteru tuhé látky, neboť kal vykazuje rýpatelnou konzistenci.

Schémat zpracování surového čistírenského kalu před jeho konečnou likvidací jsou rozličná podle původu (vlastností), technicko-ekonomických možností i následných technologických záměrů. Tři procesní operace se však vyskytují téměř vždy: zahušťování, stabilizace a odvodnění kalů.

2.3.1. Zahušťování

Provádí se např. v jednoduchých sedimentačních nádržích a umožňuje zvýšení podílu sušiny na 4–6 hm.% (cit.⁴). V současnosti se též uplatňují mechanické (strojní) metody využívající odstředivek, síťových rotačních zahušťovačů, příp. flotátorů. S přidáním flokulátoru lze na síťových zahušťovačích

dosáhnout obsahu sušiny vyššího než 6 hm.%. Separovaná kalová voda se vrací zpět do biologického čištění.

2.3.2. Stabilizace

Stabilizací kalů rozumíme anaerobní nebo aerobní zpracování kalů, jež zajišťuje jejich hygienickou a ekologickou nezávadnost (přijatelnost) se zřetelem na zamýšlené využití či likvidaci.

Existují různé metody stabilizace (např. vápněním na pH > 12 nebo ohřevem na 190 °C při tlaku 2,5 MPa aj.), ve větších jednotkách se však kaly zpracovávají nejčastěji methanizací (digescí, vyhníváním) při 30–55 °C. Methanizace je chápána jako soubor procesů, při nichž směsná kultura mikroorganismů v bezkyslíkovém prostředí postupně rozkládá rozložitelné organické látky. Při methanizaci dochází ke snížení podílu organických látek v kalu z původních 60–70 hm.% na 40–50 hm.% v sušině a celkové množství stabilizovaného kalu je asi o 20 % menší než množství kalu surového. Konečnými produkty jsou biomasa, bioplyn (kalový plyn, hlavně CH₄, CO₂, H₂ aj.), nerozložitelný zbytek organické hmoty a inertní látky.

Methanizačním procesem se také snižuje afinita kalových částic k vodě a tím se zlepšuje odvodnitelnost kalu. Nepřehlédnutelný je však citelný pokles výhřevnosti surového kalu z přibližně 17 MJ na 1 kg sušiny na asi 10–11 MJ na 1 kg sušiny (stabilizovaný kal, cit.¹). Pro zvýšení hygienizačního účinku i lepší odvodnitelnost bývá anaerobně stabilizovaný kal ještě kondicionován při teplotách dostatečných pro usmrcení patogenů (>55 °C).

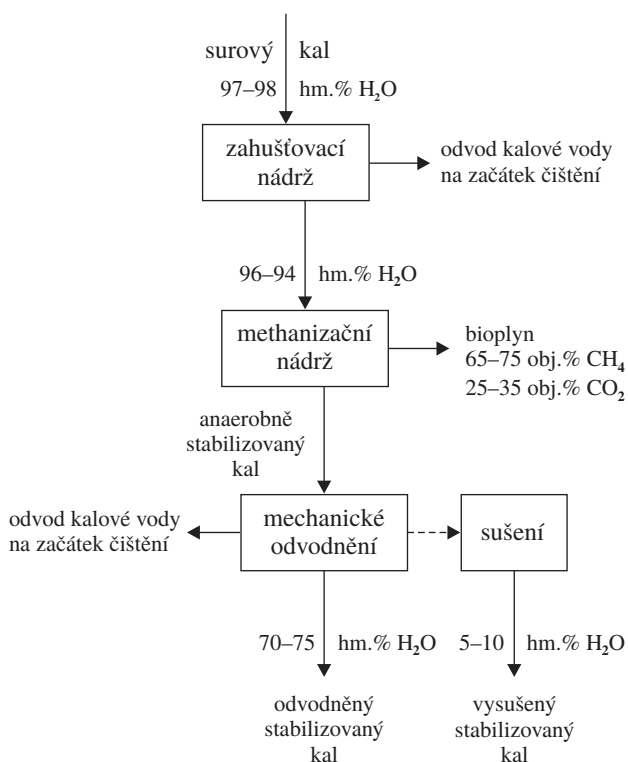
2.3.3. Odvodňování

Odvodňováním kalu označujeme další separaci vody z kalové (čerpateľné) suspenze, a to do stadia, kdy je konzistence kalu tuhá (pastovitá, těstovitá). Podíl sušiny v odvodněném kalu je vyšší než cca 20 hm.% a s takovým kalem lze manipulovat jako se zeminou. Filtrace kalové suspenze je obtížná, a proto musí být do systému přidávána různá aditiva (flokulanty, koagulanty) v množstvích 0,01–5 g na 1 kg sušiny. Vedle sloučenin Fe, Al a vápna se také používají např. jemnozrný popel nebo uhlí. S použitím dekantačních odstředivek lze kal odvodnit na 20–25 hm.% sušiny. S kalolisy, pracujícími při tlaku 1–2 MPa, se dosahuje koncentrace sušiny v odvodněném kalu 35–45 hm.%. Podobný výkon vykazují vysokotlaké pásové lisy – používání vakuové filtrace je v současnosti méně časté.

Na obr. 2 je znázorněno schéma postupné separace vody z kalů. Je zřejmé, že technické a hlavně energetické nároky jednotlivých kroků rostou s klesajícím obsahem vody. Energeticky mimořádně náročnou operací je sušení kalů, které se však v základní technologii kalů běžně nevyskytuje.

2.4. Látky přítomné ve stabilizovaných kalech

Anaerobně stabilizovaný kal je hygienicky nezávadným a nepáchnoucím materiálem. Jeho tmavé zabarvení je způsobeno přítomností FeS a dalších nerozpustných sulfidů těžkých kovů. Představuje velmi složitou směs zrnitých i koloidních látek, v jejíž sušině jsou organické a anorganické látky zastoupeny zhruba stejným dílem.



Obr. 2. Schéma separace vody z čistírenských kalů s jejich anaerobní stabilizací (methanizací)

Mezi primární složky stabilizovaného kalu patří: voda, zlomky uhynulých mikroorganismů, organické zbytky, jílovité látky, anorganické sraženiny aj. Velmi přibližně se obsah organických látek v kalu stanovuje jako ztráta žháním sušiny při 550 °C, kdy se anorganické látky ještě nerozkládají (s výjimkou HCO₃⁻, NH₄⁺ apod).

Rámcové analýzy indikují, že dobře vysušený kal obsahuje kolem 50 hm.% těkavé hořlaviny, 10 hm.% netěkavého uhlíku a 40 hm.% popela. Z environmentálního hlediska jsou důležité složky: dusík (organický, amoniakální; 3–5 hm.%), fosfor (organický, anorganický; 3–4 hm.%), síra (hlavně sírany, koncentrace organicky vázané síry jsou velmi nízké; stopy – 1 hm.%) a chlor (chloridy; ~0,1 hm.%). Z kovů, zejména těžkých, jsou významné: K, Na, Zn, Cu, Cr, Pb, Ni, Cd a Hg. Jejich koncentrace se většinou pohybují od 1 do 100 hm. ppm. Výsledky analýz dvou čistírenských kalů jsou uvedeny v tabulkách I a II.

3. Nakládání se stabilizovanými kaly

Ať už je se stabilizovaným kalem nakládáno jakýmkoliv způsobem, vždy je nutno usilovat o maximální stupeň jeho odvodnění (zmenšení objemu) při přijatelných kapitálových a provozních nákladech.

Vysoké zastoupení organických látek, značné podíly dusíku, fosforu, draslíku, vápníku a hořčíku na první pohled předurčují používat stabilizovaný kal jako zkyprovač (kondicionér) půdy a hnojivo v zemědělství. Obsah těžkých kovů

Tabulka I

Rámcová analýza vlhkého čistírenského kalu (hodnoty jsou uvedeny v hm.%)

Složka	Ho a spol. ⁶	Röper a Thomas ⁷
Voda	60	70
Těkavá hořlavina	20	13
Netěkavá hořlavina (uhlík)	3,2	2
Popel	16,8	15

Tabulka II

Elementární analýza vysušeného čistírenského kalu (hodnoty jsou uvedeny v hm.%)

Složka	Ho a spol. ⁶	Röper a Thomas ⁷
Uhlík	20,4	23
Vodík	3,8	3,5
Dusík	4,4	3,5
Síra	3,2	1,5
Kyslík	26,2	–
Chlor	–	0,12
Měď	–	0,04
Olovo	–	0,03
Chrom	–	0,03
Popel	42	50

v kalu však často převyšuje jejich průměrné koncentrace v zemědělské půdě. Neřízené vnašení kalů do půdy by tak mohlo vést k jejich akumulaci a přenosu do rostlinných, živočišných a následně i do lidských tkání. V ČR je nakládání se stabilizovanými kaly v zemědělství vymezeno nedávno vydanou vyhláškou⁸.

Výhřevnost suchého kalu se blíží výhřevnosti hnědého uhlí a spálením kalu je možno tuto energii účelně využít. Výhodné je také to, že objem vzniklého popela je pouhou desetinou objemu spalovaných strojně odvodněných kalů.

V některých přímořských státech EU bývaly v minulosti kaly vypouštěny do moře. Od tohoto způsobu bylo před několika lety zcela upuštěno. Také podíl kalů vyvážených na skládky rychle klesá. Odhaduje se, že v roce 2005 bude v zemích EU s kaly nakládáno následovně: 45 % bude recyklováno do zemědělství (nepatrný nárůst od roku 2000), 38 % spáleno (trvalý, výrazný nárůst od roku 1992), 17 % skládkováno (trvalý, rychlý pokles od roku 1992, cit.¹).

Optimální způsob nakládání s čistírenskými kaly lze těžko formulovat. Ve světle pokroku při vývoji vyspělých spalovacích technologií a zpříšňovaných zdravotních standardů v zemědělství máme za to, že podíl spalovaných či jinak vysokoteplotně zpracovávaných kalů bude trvale vzrůstat.

4. Hoření stabilizovaných odvodněných kalů

Ve srovnání s uhlím obsahuje odvodněný kal velmi vysoké podíly vody a těkavé hořlaviny, což spalovací proces silně

ovlivňuje. Příznačné jsou také vysoké obsahy dusíku a popelu v kalu.

Hladký chod spalovacího procesu podmiňuje jeho energetická (tepelná) bilance: vložená energie, uvolněná především spálením kalu a případného/podpůrného paliva, příp. kombinovaná s energií předehřátého spalovacího vzduchu, musí pokrývat spotřebu tepla na vypaření vody přítomné v kalu ($r_{\text{H}_2\text{O}}$ (298 K) = 2,4402 MJ.kg⁻¹, ohřátí vodních par ($C_{p\text{H}_2\text{O}}$ (298 K) = 1,9476 kJ.kg⁻¹.K⁻¹) a spalin (např. $C_{p\text{N}_2}$ (298 K) = 1,0160 kJ.kg⁻¹.K⁻¹) na teplotu kolem 850–900 °C. Spotřeba tepla na odpaření vody z kalu je velká. Kromě toho vzniklá vodní pára zvětšuje objem spalin, na který musí být všechny potřebné procesní jednotky dimenzovány. Je proto velice důležité, aby množství vody odstraněné z kalu mechanickými (strojnými) prostředky bylo co možno největší.

Z praktického pohledu je významný pojem efektivní výhřevnosti vlhkého kalu, h_{ef}

$$h_{\text{ef}} \sim (1 - w)h - w r_{\text{H}_2\text{O}} \quad (1)$$

kde h je výhřevnost sušiny (MJ.kg⁻¹), w hmotnostní podíl vody v kalu a $r_{\text{H}_2\text{O}}$ je výparné teplo vody (MJ.kg⁻¹). Pro dosažení autarkního (soběstačného) průběhu hoření při 850 °C uvádí Hyžík⁹ $h_{\text{ef}} = 4,20$ MJ.kg⁻¹. Z dat prezentovaných v cit.¹ vyplývá hodnota poněkud menší – $h_{\text{ef}} = 3,37$ MJ.kg⁻¹. Ze vztahu (1) můžeme potom odhadnout maximální obsah vody v kalu, kdy se spalování může dít autonomně, tj. bez přívodu podpůrného paliva:

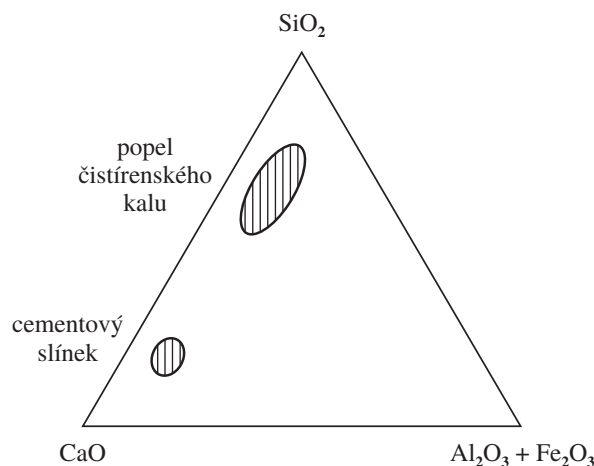
$$w < (h - h_{\text{ef}}) / (h + r_{\text{H}_2\text{O}}) \quad (2)$$

Předpokládáme-li $h = 11$ MJ.kg⁻¹ a $h_{\text{ef}} = (4,20 + 3,37)/2 = 3,785$ MJ.kg⁻¹, bude hoření odvodněného stabilizovaného kalu autarkní (tepelně samonosné), když obsah vody bude menší než 53,7 hm.%. Je tedy evidentní, že typický stabilizovaný kal (70–75 hm.% H₂O) nelze spálit bez případného (podpůrného) paliva (plyn, olej, uhlí eventuálně v kombinaci s předehřátým vzduchem). Ve světle těchto elementárních úvah se nabízí varianta spalovat kal nestabilizovaný (nevyhnilý), neboť má větší výhřevnost ($h = 17$ MJ.kg⁻¹, $w_{\text{max}} = 68$ hm.% H₂O). Technické požadavky na manipulaci s hygienicky problematickým materiálem jsou však podstatně náročnější.

Uvolňování těkavých hořavin (pyrolýza) se skládá z velkého počtu reakcí, kterými se organické látky v kalu rozkládají při vyšších teplotách na plyny (CO, C_xH_y, H₂ a CO₂), kapalinu (dehet) a tuhý zbytek (uhlík, koks). Obvykle více než 80 % organického uhlíku v kalu přechází při jeho pyrolýze do plynné fáze. Vzhledem k vysokému podílu těkavých hořavin v kalu je jejich hoření velmi důležitým – nejspíše dominantním – procesem při spalování kalů. Pro hoření těkavých hořavin je charakteristická především velmi vysoká rychlost spotřeby kyslíku. Proto musí být plynná směs s potřebným spalovacím vzduchem velmi rychle a účinně promíchávána¹⁰.

Naše zkušenosti naznačují, že koks vzniklý z kalů bude pravděpodobně pórovitý a velmi reaktivní. I přes vysoký obsah popelovin by jeho spalování nemělo být problémem. Jistá část organicky vázaného dusíku v kalech se při spalování nutně oxiduje na oxidy dusíku. Ukazuje se, že konverze dusíku na NO_x obecně klesá s jeho rostoucí koncentrací v palivu¹¹.

Zajímavé je minerální složení popela z čistírenských kalů, zobrazené v trojúhelníkovém diagramu CaO–SiO₂–R₂O₃(Al₂O₃+Fe₂O₃) vedle složení cementového slínku¹² (obr. 3). Zatímco



Obr. 3. Srovnání složení popela z čistírenských kalů a cementového slínku¹²

podíl R₂O₃ je v obou materiálech téměř stejný, obsah SiO₂ v popelu z kalu je asi 2,5× větší než ve slínku, a to na úkor CaO.

5. Hlavní polutanty a jejich vzájemné souvislosti při hoření kalů

Emise oxidu uhelnatého a organických látek ze spalovacího systému rezultují z neúplné oxidace paliva. Kvalita i kvantita uhlovodíků (C_xH_y) přítomných ve spalinách závisí na typu paliva a na pochodu řídicím oxidaci. Zvláštní pozornost vyžadují také polycyklické aromatické látky (např. početné skupiny toxických dibenzodioxinů a dibenzofuranů). Emise CO obecně korelují s přítomností organických nespálených zbytků a pozoruhodné je, že koncentrace CO ve spalinách narůstají dříve než koncentrace těchto organických reziduí¹⁰.

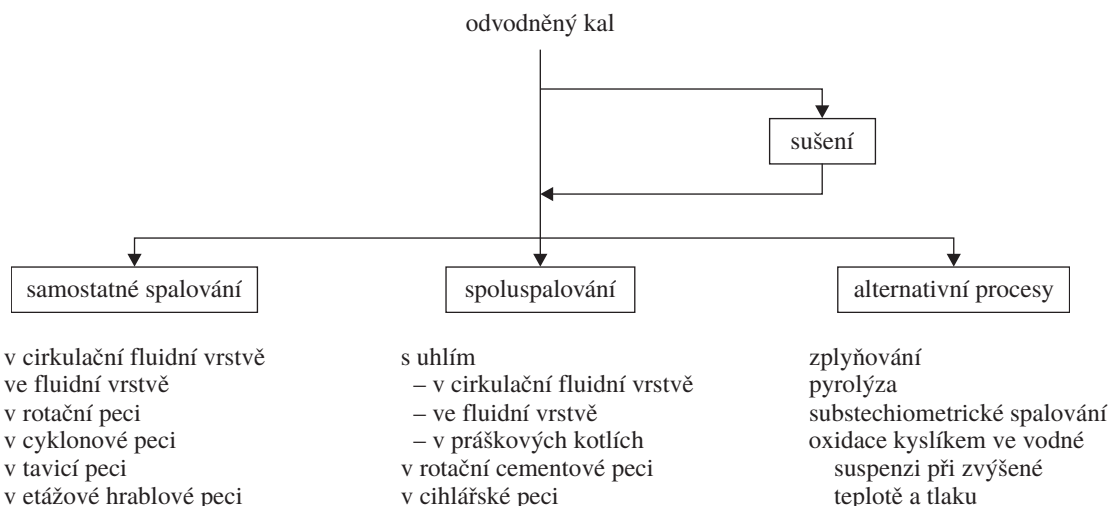
Při teplotách nižších než 950 °C prakticky nedochází k oxidaci atmosférického dusíku. Určitý podíl organického dusíku vázaného v palivu (kalu) je však konvertován na NO, N₂O a v menší míře i na NO₂ (cit.¹¹). Prakticky veškerá chemicky vázaná síra se oxiduje na oxid siřičitý a všechny chlor přechází na chlorovodík.

Jak již samotné fyzikálně-chemické principy naznačují a praktické zkušenosti potvrzují^{10,11}, emise CO, organických reziduí a NO_x jsou ve vzájemném vztahu. Např. zvýšením poměru vzduch/palivo se zmenší emise CO a organických reziduí, avšak zároveň se zvýší koncentrace NO_x ve spalinách. Tu lze snížit víceetapovým přívodem vzduchu, což však vede na druhé straně ke zvýšení podílu CO ve spaliných plynech.

Významné podíly fosforu a těkavých kovů, jako jsou Pb, Cd, As a Hg, mohou během hoření přecházet do plynné fáze. Hlavní podíl těžkých kovů (vedle dříve uvedených též Zn, Cu, Cr, Ni aj.) však zůstává především v jemných frakcích popela.

6. Způsoby tepelného zpracování kalů

Postupů k tepelnému zpracování kalů je celá řada. Liší se nejen svými fyzikálně-chemickými principy, ale i stupněm technologické zralosti. Považujeme za účelné je rozdělit do tří



Obr. 4. Různé způsoby tepelného zpracování čistírenských kalů

hlavních skupin: samostatné spalování (v samostatné jednotce obvykle s podpurným palivem), spoluspalování (nejčastěji v uhelných kotlích, ve spalovnách tuhého městského odpadu aj.) a alternativní procesy, které se však většinou nacházejí teprve ve stadiu vývoje. Příklady různých tepelných procesů jsou uvedeny na obr. 4.

Při aplikaci kteréhokoliv postupu je nutno mít na zřeteli několik základních faktorů:

1. Mechanicky odvodněný kal se 70–80 hm.% vlhkosti nemá dostatečnou výhřevnost pro autarkní spalování.
2. Vysoký podíl těkavé hořlaviny v kalu klade zvýšené požadavky na spalování v plynné fázi.
3. Vysoký obsah popelu, do kterého přechází většina toxických těžkých kovů.
4. Spaliny vypouštěné do ovzduší musí být důkladně vyčištěny (např. cit.¹³), aby splňovaly přísné požadavky kladené na spalné plyny ze spalovny odpadů.

Nejjednodušší řešení se zdá být spoluspalování kalu v uhelných elektrárnách (teplárnách). Aby nedošlo k nežádoucímu ovlivnění spalovacího procesu v uhelných kotlích, musí objem spalovaného kalu představovat jen malou část paliva. Podobným omezením je vázáno i spoluspalování kalu v cementářské rotační peci.

6.1. Spalování ve fluidní vrstvě

Fluidní technika nachází své uplatnění v průmyslových technologiích po řadu desetiletí. Např. již v roce 1922 patentoval Winkler své fluidní zplyňování uhlí a v roce 1942 byl vyvinut efektivní postup katalytického krakování ropných frakcí¹⁴. Fluidací rozumíme operaci, při které jsou tuhé částice udržovány ve vznosu (suspenzi) dynamickými účinky třecích sil vyvolaných vertikálně proudícím plynem (příp. kapalinou; např. cit.¹⁵). Fluidní technika zaujímá také silné postavení v oblasti spalování, neboť umožňuje spalovat i nekvalitní paliva, odpadní látky, a tedy také i čistírenský kal.

Úspěch fluidních technologií plyne ze základní charakteristiky chování fluidní vrstvy:

1. Intenzivní promíchávání, velmi účinný mezifázový kon-

takt a rychlé přestupy tepla a hmoty zajišťují účinné spalování.

2. Prakticky rovnoměrná teplotní pole ve vrstvě usnadňují regulaci teploty a umožňují efektivní spalování i při relativně nižších teplotách. Takto je možno např. omezit nebo potlačit vypařování těkavých kovů a spékání/tavení popela.
3. Prostor nad fluidní vrstvou funguje jako dopalovací komora, zajišťující úplnou destrukci/spálení těkavých hořlavin.
4. Horký/žhavý inertní materiál ve vrstvě působí jako tepelný setrvačnick, tlumící krátkodobá kolísání teploty vyvolaná změnami v dávkování, nebo ve složení kalu.
5. Fluidní spalovací reaktor/kotel nevyžaduje žádné pohyblivé elementy v zóně vysokých teplot.

7. Závěr

Podle všech indicií současná vysoká produkce čistírenských kalů poroste i nadále. Je tedy nutné hledat způsoby, jak s jejich enormními objemy vhodně nakládat. Možnosti skládkování jsou značně omezené a jejich recyklace do půdy není bez problémů. Slibný potenciál spalování a jiných tepelných procesů je demonstrován rostoucím zájmem o tyto způsoby likvidace kalů.

Čistírenský kal je možno spalovat samostatně, nebo spolu s uhlím či s tuhým městským odpadem ve fluidních kotlích, nebo v rotačních pecích. Na rozdíl od spalování, alternativní tepelné procesy, jako např. zplyňování, pyrolýza, nebo transformace kalu na kapalné uhlovodíky aj., dosud nedosáhly potřebné technologické zralosti.

Se současnými způsoby čištění spalných plynů splňuje spalování čistírenských kalů velmi přísné emisní limity. V případě nutnosti lze těžké kovy v popelu z čistírenského kalu bez potíží imobilizovat/stabilizovat.

S e z n a m s y m b o l ů

BSK₅ pětidenní biochemická spotřeba kyslíku, mg.l⁻¹

C_{pH_2O} (298 K)	měrné teplo vodních par při teplotě 298 K a konstantním tlaku (= 1,9476), $\text{kJ}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$
C_{pN_2} (298 K)	měrné teplo dusíku při teplotě 298 K a konstantním tlaku (= 1,0160), $\text{kJ}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$
h	výhřevnost vysušeného kalu (sušiny), $\text{MJ}\cdot\text{kg}^{-1}$
h_{ef}	efektivní výhřevnost vlhkého kalu podle vzta- hu (1), $\text{MJ}\cdot\text{kg}^{-1}$
r_{H_2O} (298 K)	výparné teplo vody při teplotě 298 K (2,4402 $\text{MJ}\cdot\text{kg}^{-1}$ resp. 43,960 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$)
w	hmotnostní podíl vody v kalu ($w = w_1 / (1 + w_1)$), $\text{kg H}_2\text{O}$ na 1 kg vlhkého kalu
w_1	hmotnostní poměr vody k sušině v kalu ($w_1 = w / (1 - w)$), $\text{kg H}_2\text{O}$ na 1 kg sušiny

Tato práce byla podpořena Grantovou agenturou Akademie věd České republiky (grant č. A 4072201) a Grantovou agenturou České republiky (grant č. 203/02/0002). Děkuje anonymnímu recenzentovi za připomínky k této práci.

LITERATURA

1. Werther J., Ogada T.: Prog. Energy Combust. Sci. 25, 55 (1999).
2. Pitter P.: Hydrochemie. VŠCHT, Praha 1999.
3. Malý J., Hlavínek P.: Čištění průmyslových odpadních vod. Noel, Brno 1996.
4. Sýkora K.: Sborník semináře Zpracování a využití kalů: Zásady konstrukce a provozu zařízení kalového hospodářství, Praha 24.3.1999. SYS-ACE, Praha 1999.
5. McGhee T. J.: Water Supply and Sewerage. McGraw-Hill, New York 1991.
6. Ho T. C., Ku R., Hopper J. R.: AIChE Symp. Ser. 84 (262), 126 (1988).
7. Röper B., Thomas G., v knize: Circulating Bed Technology VI (Werther J., ed.), str. 705. Dechema, Frankfurt 1999.
8. Vyhláška MŽP č. 382/2001 Sb. o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě.
9. Hyžík J.: Odpady 2002 (6), 21.
10. Veselý V., Hartman M., Trnka O.: Fuel 75, 1271 (1996).
11. Svoboda K., Hartman M.: Fuel 70, 865 (1991).
12. Sponar J., Havlica J.: Chem. Listy 95, 424 (2001).
13. Hyžík J.: Chem. Listy 95, 411 (2001).
14. Yates J. G.: Fundamentals of Fluidized-Bed Chemical Processes. Butterworths, London 1983.
15. Hartman M., Svoboda K., Trnka O., Beran Z.: Chem. Listy 93, 788 (1999).

M. Hartman, K. Svoboda, V. Veselý, O. Trnka, and J. Chour (Institute of Chemical Process Fundamentals, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague): **Sewage Sludge Thermal Processing**

Various points related to the sewage sludge and its disposal are discussed, such as its formation, characteristics, and processing. Four sludge disposal procedures that are currently employed are discussed: landfilling, recycling in agriculture, incineration, and dumping in the sea. The current trend indicates an increasing interest in sludge incineration. Various technologies for the thermal processing of sewage sludge are lumped in three groups: co-combustion, mono-combustion, and alternative processes. Promising potential for an efficient sludge incineration (e.g., mono-combustion or co-combustion with coal) is offered by fluidized-bed combustors. In contrast to coal, the sewage sludge contains high amounts of water and volatile matter, a high fraction of ash, and appreciable amounts of nitrogen and phosphorus. Of concern in the sludge incineration are also heavy metals, acid gases (including NO_x), and dibenzodioxins and dibenzofurans.

SPRÁVNÁ LABORATORNÍ PRAXE OD NEDÁVNÉ MINULOSTI PO SOUČASNOST

PETR FINGER a IVAN KORUNA

ASLAB Národní inspekční orgán správné laboratorní praxe, Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka, Podbabská 30, 160 62 Praha 6
e-mail: finger@vuv.cz

Došlo 3.8.03, přepracováno 3.8.03, přijato 16.8.03.

Klíčová slova: chemické látky, nebezpečné vlastnosti, správná laboratorní praxe, uznávání výsledků, OECD, EU

Obsah

1. Zavádění správné laboratorní praxe v České republice
2. Cesta k úspěchu
 - 2.1. Platná legislativa v oblasti chemických látek a chemických přípravků
 - 2.2. Národní program SLP
3. Období 1999–2003
4. Závěr

1. Zavádění správné laboratorní praxe v České republice

Vstup do OECD znamenal pro Českou republiku nutnost zavedení systému správné laboratorní praxe (dále jen SLP), která z členství vyplývá. V důsledku vstupu ČR do OECD došlo k legislativním změnám a ke vzniku řady nových legislativních předpisů. Proces tvorby zákonů je složitý a zdlouhavý, a tak nový zákon o chemických látkách nabyl účinnosti až 1.1.1999.

V návaznosti na zákon byla vydána i první vyhláška o zásadách SLP, která však neobsahovala základní požadavky zdrojových dokumentů. Její návrh byl během mezinárodního auditu (listopad 1998) podroben tvrdé, leč oprávněné kritice. Výsledkem auditu bylo konstatování pracovní skupiny SLP OECD, že český systém SLP tak, jak byl představen, nebyl funkční a neodpovídal požadavkům OECD a směrnice č. 2 a 3. Samotný výsledek auditu je možno prezentovat jako důsledek překotné a neuvážené činnosti. Nejen že v době auditu neexistovala platná legislativa (zákon¹ i vyhláška² existovaly pouze v návrhu), ale nebyl ani oficiálně ustanoven inspekční orgán a nebyly splněny další požadavky potřebné k vyslovení důvěry v zavedený systém.

2. Cesta k úspěchu

Na jaře 1999 začala spolupráce mezi inspekční sekci SÚKL a Národním inspekčním orgánem SLP. Oficiálně byl však

Národní inspekční orgán ustanoven Ministerstvem životního prostředí při ASLAB – Středisku pro posuzování způsobilosti laboratoří ve Výzkumném ústavu vodohospodářském T. G. Masaryka (VÚV T.G.M.) až v létě roku 2000.

Již před oficiálním ustavením Národního inspekčního orgánu byla zahájena práce na tvorbě společného Národního programu SLP³, který je z hlediska OECD jedním z klíčových dokumentů. Dalším, neméně důležitým krokem, byla příprava nové vyhlášky⁴ o SLP a překlad dalších základních dokumentů OECD, týkajících se SLP. Tyto dokumenty, z hlediska legislativy méně důležité, byly publikovány souběžně ve Věstníku Ministerstva životního prostředí a ve Věstníku SÚKL.

2.1. Platná legislativa v oblasti chemických látek a chemických přípravků

V některých členských státech OECD je inspekční (monitorovací) orgán jeden (např. Velká Británie, Rakousko), v jiných je inspekčních orgánů více. Jejich působnost může být omezena regionálně (např. Německo – podle spolkových zemí), podle oblastí, tj. pro léčiva, chemické látky a chemické přípravky, pesticidy atd. (např. Dánsko, Švédsko) nebo podle příslušnosti k odpovědnému ministerstvu (např. Japonsko – 7 monitorovacích orgánů a 7 programů!).

Česká republika se v tomto případě příliš neodlišuje. Existují zde dva zákony^{1,5}, které stanovují povinnost zavedení zásad SLP, dvě sady prováděcích předpisů^{4,6} a dva inspekční orgány. Sjednocujícím prvkem jsou totožná znění příloh vyhlášek o SLP, jeden Národní program SLP a společné překlady směrnic SLP OECD č. 2 a 3 (cit.⁷). Metodický pokyn k provádění zákona č. 157/1998 Sb. popisuje proces, podání žádosti, udělení osvědčení a práva a povinnosti jak testovacího zařízení, tak inspektorů Národního inspekčního orgánu správné laboratorní praxe⁸.

Pokud bylo testovací zařízení v době kontroly v souladu se zásadami SLP, vydává Ministerstvo životního prostředí v oblasti chemických látek a chemických přípravků osvědčení na základě doporučení Národního inspekčního orgánu, obsaženého ve zprávě o výsledku kontroly. Některé z výše uvedených dokumentů jsou přístupné na internetových stránkách ASLAB (cit.⁹).

Po řadě novel zákona č. 157/1998 Sb. je v současné době připravován nový zákon, jenž by měl nabýt účinnosti se vstupem České republiky do Evropské Unie. S tím souvisí i příprava nových prováděcích předpisů. Na těchto aktivitách Národní inspekční orgán participuje; ne vždy však jsou jeho připomínky akceptovány a ne vždy je o připravovaných změnách informován včas. Důsledkem je přetrvávání nedostatků v platné legislativě. To je i případ připravovaného znění zákona, který zatím obsahuje některé požadavky nad rámec předpisů OECD, jiným naopak nevyhovuje nebo komplikuje komunikaci mezi Národním inspekčním orgánem a testovacími zařízeními.

Některé z těchto nedostatků by měl vyřešit chystaný prováděcí předpis k novému zákonu.

2.2. Národní program SLP

Podmínky pro vzájemné uznávání výsledků neklinických studií mezi členskými státy jsou zavedení systému správné laboratorní praxe, harmonizace postupů monitorování shody a tím porovnatelnost jakosti a důvěryhodnosti získaných údajů.

Na základě doporučených struktur, používaných mechanismů a postupů vypracovaly Kontrolní orgán SLP SÚKL a Národní inspekční orgán SLP Ministerstva životního prostředí Národní program monitorování shody se správnou laboratorní praxí.

Program vymezuje rámec a rozsah monitorování shody se zásadami SLP, popisuje organizaci národních monitorovacích orgánů a postupy udělení osvědčení a zařazení testovacího zařízení do Národního programu SLP. Program byl vypracován podle doporučení obsaženého ve Směrnici OECD SLP č. 2, vyhovuje požadavkům OECD a je mezinárodně přijatelný.

3. Období 1999–2003

V tomto čtyřletém období, jak již bylo v úvodu řečeno, došlo jednak k úpravě legislativy a tvorbě nové, jednak pokračovalo intenzivní školení inspektorů. Výcvik a školení inspektorů je, kromě vlastní inspekční činnosti, z hlediska OECD jedna z nejdůležitějších aktivit.

Vzhledem k členství České republiky v OECD a očekávanému vstupu do EU vyvstala, již po neúspěšném auditu v roce 1998, nutnost rehabilitace systému SLP v ČR. Ve spolupráci s pracovní skupinou SLP OECD byl dohodnuto, že monitorovací orgány České republiky společně se správními orgány, zejména v oblasti chemických látek a chemických přípravků, upraví legislativu vztahující se ke správné laboratorní praxi ve smyslu požadavků OECD, které se používají i v EU. Dále pak podle jednání vypracují oba monitorovací orgány Národní program SLP podle požadavků směrnice č. 2 OECD.

V létě roku 2000 byl dopisem ministra životního prostředí oficiálně ustanoven Inspekční orgán SLP a byli jmenováni ředitel Inspekčního orgánu a inspektor. To byl první krok ke zdárnému uznání systému SLP v rámci OECD.

V roce 2001 vyvrcholila činnost spojená s úpravami legislativy a tvorbou nové. Vyšla nová vyhláška o správné laboratorní praxi⁴, která již splňuje všechny důležité požadavky OECD a dále, jako metodické pokyny Ministerstva životního prostředí, byly publikovány překlady směrnic SLP OECD č. 2 – požadavky na monitorovací orgány a národní programy a směrnice č. 3 – pokyny pro provádění inspekcí a auditů studií⁷. Koncem roku byl publikován z hlediska OECD patrně nejdůležitější dokument, Národní program SLP, společný pro oblast chemických látek a chemických přípravků i pro oblast humánních a veterinárních léčiv.

Podle dohody s pracovní skupinou SLP OECD byla shromážděna veškerá dokumentace, tj. legislativa, metodické pokyny, Národní program a popis nápravných opatření uskutečněných od roku 1998. Tento soubor dokumentů a jeho anglické překlady byly předány k posouzení sekretariátu OECD a inspekční skupině, která vykonala audit v roce 1998. Úkolem inspekční skupiny bylo znova posoudit předloženou dokumentaci a uskutečněná nápravná opatření a rozhodnout, zda odpovídají požadavkům, a zda je možno český systém hodnotit jako vyhovující. Toto rozhodnutí mělo být vyřčeno na zasedání pracovní skupiny v březnu 2002 ve Washingtonu.

Jelikož vedoucí inspekční skupiny nedokončil zprávu včas, bylo jednání odloženo na následující zasedání téhož roku v září v Sydney. V dostatečném předstihu před zasedáním byl Národnímu inspekčnímu orgánu poskytnut návrh zprávy k vyjádření. Vzhledem k tomu, že zpráva popisovala reálnou situaci a tón zprávy byl optimistický, komentář se omezil pouze na konstatování souhlasu.

V průběhu zasedání bylo několik hodin věnováno právě diskusi o zprávě a vynesení rozhodnutí. Po bohaté diskusi, kdy zástupce České republiky musel vysvětlovat množství dotazů vznesených např. i z nepochopení a reagovat na četné připomínky, rozhodla pracovní skupina takto: Předložená dokumentace plně odpovídá požadavkům OECD i Evropské komise a systém zavedený v České republice lze považovat za kompatibilní se systémy zavedenými v ostatních členských státech OECD. Součástí auditu musí ovšem být i posouzení vlastní činnosti inspektorů při kontrole testovacího zařízení. Tato podmínka v roce 1998 bezesbýtku splněna nebyla. Předložená dokumentace nemůže nahradit vlastní posouzení průběhu kontroly testovacího zařízení na místě. Z toho důvodu byl podán a po diskusi i odsouhlasen návrh na dodatečný audit pouze k posouzení činnosti inspektorů při kontrole testovacího zařízení.

Z řady důvodů byl pracovní skupinou přijat návrh zástupce Holandska, aby audit vykonal jeden inspektor. Pro audit byl jmenován inspektor z Holandska, který již byl členem komise v roce 1998 a byl nejlépe obeznámen se situací. Na přání všech zúčastněných, zejména pak zástupce Evropské komise bylo dohodnuto, aby se audit uskutečnil ještě do konce roku.

Audit se uskutečnil ve dnech 2.–5. prosince 2002. Oficiální zahájení se konalo na Ministerstvu životního prostředí úvodním zasedáním u ředitele odboru environmentálních rizik. Vlastní audit kontroly testovacího zařízení byl veden standardním postupem podle směrnice SLP OECD. Oficiální ukončení auditu proběhlo opět na Ministerstvu životního prostředí. Během závěrečného zasedání stručně zhodnotil delegovaný zástupce OECD průběh kontroly a konstatoval, že byl ohromen důkladným a efektivním způsobem, jakým inspekční skupina provedla kontrolu, stejně jako audit studie. Průběh kontroly, činnost inspektorů i jejich zjištění a závěry zcela odpovídaly standardu členských států OECD.

Bezprostředně po ukončení auditu byla vypracována závěrečná zpráva. Zpráva obsahovala vedle popisu průběhu kontroly a závěrů, odpovídajících prohlášení prezentovanému při závěrečném zasedání na MŽP, též vyjádření Národního inspekčního orgánu SLP k některým komentářům. Zpráva byla odeslána sekretariátu OECD a Evropské komisi ještě před koncem roku 2002.

Souhlas se zprávou v rámci OECD by měl být vysloven na nejbližším zasedání pracovní skupiny v září letošního roku a uznání systému SLP v České republice by, vzhledem k obsahu zprávy, mělo být pouze formální záležitostí. Přístup Evropské komise byl v tomto případě daleko rychlejší, neboť bylo konstatováno, že Evropská komise přijímá závěry zprávy bez výhrad a český systém považuje od data vydání zprávy za plně kompatibilní se systémy evropskými.

4. Závěr

Počátky zavádění systému SLP v České republice byly provázeny mnoha omyly, spěchem a také, bohužel, ne vždy

dokonalým pochopením problému. Po úvodních nezdarech, které mnohdy připomínaly spíše ostudu, došlo ve velmi krátké době k úpravě legislativy, vytvoření potřebné dokumentace a k oficiálnímu ustanovení inspekčního orgánu pro oblast chemických látek a chemických přípravků. Činnost Národního inspekčního orgánu je na vysoké úrovni a od jeho vzniku plně odpovídá jak požadavkům OECD, tak Evropské komise.

LITERATURA

1. Zákon č. 157/1998 Sb., o chemických látkách a chemických přípravcích a o změně některých dalších zákonů, ve znění pozdějších předpisů.
2. Vyhláška č. 305/1998 Sb. Ministerstva životního prostředí, kterou se stanoví zásady správné laboratorní praxe, postup při ověřování jejich dodržování, postup při vydávání osvědčení a postup kontroly dodržování zásad správné laboratorní praxe (zásady správné laboratorní praxe).
3. Národní program SLP, Věstník Ministerstva životního prostředí, 12/01.
4. Vyhláška Ministerstva životního prostředí č. 283/2001 Sb., o zásadách správné laboratorní praxe, postupu při ověřování jejich dodržování, postupu při vydávání a odnímání osvědčení a postupu kontroly dodržování zásad správné laboratorní praxe při zkoušení vlastností chemických látek a chemických přípravků (zásady správné laboratorní praxe). Překlad dokumentu „Rozhodnutí rady OECD [C(97)186 (final)]“ (tj. „Zásady správné laboratorní praxe OECD“) tvoří přílohu č. 1 vyhlášky.
5. Zákon č. 79/1997 Sb. o léčivech a o změnách a doplnění některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů.
6. Vyhláška Ministerstva zdravotnictví a Ministerstva ze-

mědělství č. 504/2000 Sb., kterou se stanoví správná laboratorní praxe v oblasti léčiv.

7. Prvky postupů monitorování Správné laboratorní praxe; Monitorování shody se správnou laboratorní praxí, provádění kontrol testovacích zařízení a auditů studií, Věstník Ministerstva životního prostředí, 12/01.
8. Metodický pokyn k provádění zákona č. 157/1998 Sb., ve znění zákona č. 352/1999 Sb. a vyhlášky č. 283/2001 Sb. k postupu získání osvědčení o dodržování zásad správné laboratorní praxe a zařazení testovacího zařízení do národního programu SLP, Věstník Ministerstva životního prostředí 03/02.
9. <http://aslab.vuv.cz>, 1. červenec 2003.

P. Finger and I. Koruna (ASLAB, National Good Laboratory Practice Monitoring Body, T. G. Masaryk Water Research Institute, Prague): **Good Laboratory Practice since the Recent Past until the Present Time**

A short history is presented of introducing good laboratory practice (GLP) in the Czech Republic since 1998. The results are described of intensive cooperation between the inspection section of the State Institute for Drug Control and the Czech GLP Monitoring Authority. Valid legislative documents related to GLP are Act No. 157/1998 Coll., Decree No. 238/2001 Coll., the National GLP Compliance Programme, and methodological guidelines published in parallel in Bulletin of the Ministry of Environment and and in Bulletin of the State Institute for Drug Control. Preparation of a new act and decree, conclusions of the 16th meeting of the working group on GLP of OECD, and conclusions of the following visit of OECD inspectors to the Czech Republic leading to the full international recognition of the Czech GLP system are described in detail.

MOŽNOSTI AEROBNÍHO MIKROBIÁLNÍHO ODBOURÁVÁNÍ TRICHLORETHENU

MAGDA SERGEJEVOVÁ^a a JAN RŮŽIČKA^b

^aÚstav fyzikální biologie, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zámek, 373 33 Nové Hradky, ^bÚstav technologie životního prostředí a chemie, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, nám. TGM 275, 762 72 Zlín
e-mail: sergejevova@alga.cz, ruzickaj@ft.utb.cz

Došlo 7.11.02, přepracováno 18.6.03, přijato 10.7.03.

Klíčová slova: trichlorethen, biotransformace, bakterie, methan, fenol, fenol-2-monooxygenasa, degradace, konečné produkty, podzemní vody

Obsah

1. Úvod
2. Aerobní degradace trichlorethenu
3. Produkty biotransformace trichlorethenu
4. Aplikace bakteriálních kultur pro dekontaminaci podzemních vod

1. Úvod

Trichlorethen (TCE) patří spolu s tetrachlorethenem (PCE) k nejpoužívanějším chlorovaným uhlovodíkům. Používá se jako průmyslové rozpouštědlo, čistící a odmašťovací prostředek a chemická surovina. Je považován za látku jednoznačně cizorodou, i když v přírodě je v nepatrných koncentracích vytvářen některými mořskými řasami^{1,2}. Primárním recipientem uvolňovaného TCE je atmosféra. Hlavními emisními zdroji jsou výpary z odmašťovacích operací, tvořící přibližně 90 % emisí. Ostatní zdroje zahrnují ztráty rozpouštědla z textilní výroby, dále přímo z jeho výroby, a úniky při nedbalém používání³. Poslední z nich se nejvíce podílí na znečištění řady lokalit půd, podzemních i některých pitných vod koncentracemi od několika desítek $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ až po stovky $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$.

TCE je značně inertní vůči chemickým a zvláště biologickým transformacím. Ve vyspělých státech celého světa i v ČR se kontaminace touto látkou vyskytují především v průmyslových zónách a vojenských objektech. Význačná je situace v USA, kde bylo v minulých letech zaznamenáno v různých oblastech znečištění 9–34 % zdrojů pitné vody trichlorethenem³.

K expozici člověka dochází dýcháním kontaminovaného vzduchu nebo požíváním pitné vody s obsahem TCE. Ten v organismu postihuje zejména centrální nervovou soustavu, dráždí oční i nosní sliznici a v extrémních případech může způsobit i smrt³. Výzkumy na zvířatech prokázaly poškození ledvin, jater, krve a výskyt tumorů i leukémie. Vztah mezi přítomností TCE v pitné vodě a zvýšeným výskytem

malformací u narozených dětí byl nalezen v několika epidemiologických studiích. Výzkumné práce naznačují, že vlastním činitelem některých poškození mohou být metabolity rozkladu TCE v organismu, zejména kyselina trichloroacetová⁴.

Snahy o dekontaminaci životního prostředí, zvláště půd a podzemních vod, však nejsou vyvolány jen vlastní toxicitou a persisterací TCE. Jak bylo zjištěno před několika lety, za anaerobních podmínek, které se mohou vyskytovat v podzemních vodách a spodních půdních vrstvách, dochází k mikrobiální dehalogenaci TCE na nížechlorované alkeny a poté na karcinogenní vinylchlorid⁵. Především tímto nežádoucím procesům je tedy významným úkolem remediačních technologií.

TCE a další zástupci chlorovaných ethenů jsou v současné době ze životního prostředí odstraňovány především fyzikálními postupy, kdy jsou z podzemních vod a z půdy vyubulány nebo vypuzeny proudem vzduchu a zachyceny na sorbentu. Tím se daří kontaminanty ze životního prostředí odstranit, zůstává ale problém, jak zacházet se získaným odpadem dále. Biologický rozklad proto může být velmi zajímavou alternativou odstranění TCE, samozřejmě se však neobejde bez detailních znalostí celého procesu.

2. Aerobní degradace trichlorethenu

Mikrobiální aerobní rozklad TCE probíhá téměř výlučně kometabolickým způsobem, tedy po kontaktu vhodných mikrobiálních buněk s určitým specifickým substrátem, který v nich indukuje tvorbu příslušných katabolických enzymů. Ty potom – díky své širší substrátové specifitě – atakují více méně náhodně i nepřírozený substrát a transformují jej. Například fenol-2-monooxygenasa má tak širokou substrátovou specifitu, že kromě fenolu atakuje i resorcinol, kresol, chlorfenoly a aminofenoly, orcinol (5-methylresorcinol), pyrogallol a některé další látky⁶.

V případě TCE byl proces aerobní mikrobiální biotransformace poprvé popsán v osmdesátých letech dvacátého století^{7,8}, což odstartovalo intenzivní výzkum biologického i inženýrského charakteru. Bylo prokázáno, že schopnost degradace TCE má několik bakteriálních skupin – především methanotrofní bakterie vyžadující jako substrát metan^{9,10}, dále řada bakterií rostoucích na aromatických uhlovodících (fenolu, toluenu, kresolu, *o*-xylynu, isopropylbenzenu)^{11–15}, některé rody využívající propan, propen^{16,17} či dokonce dimethylsulfid^{17,18}, a také nitrifikační bakterie oxidující amoniak na dusitan¹⁹.

Společnou vlastností uvedených potřebných substrátů je skutečnost, že jejich bakteriální přeměna je v prvním stupni katalyzována oxygenasami. Tento typ enzymů vnáší jeden nebo dva atomy kyslíku do molekuly substrátu za účasti NADH nebo NADPH. Otázka, zda jsou to právě oxygenasy, které katalyzují i přeměnu TCE, byla zodpovězena poměrně záhy několika pracemi. Bylo prokázáno, že mutanti postrádající toluen-2-monooxygenasu, resp. toluen-dioxyge-

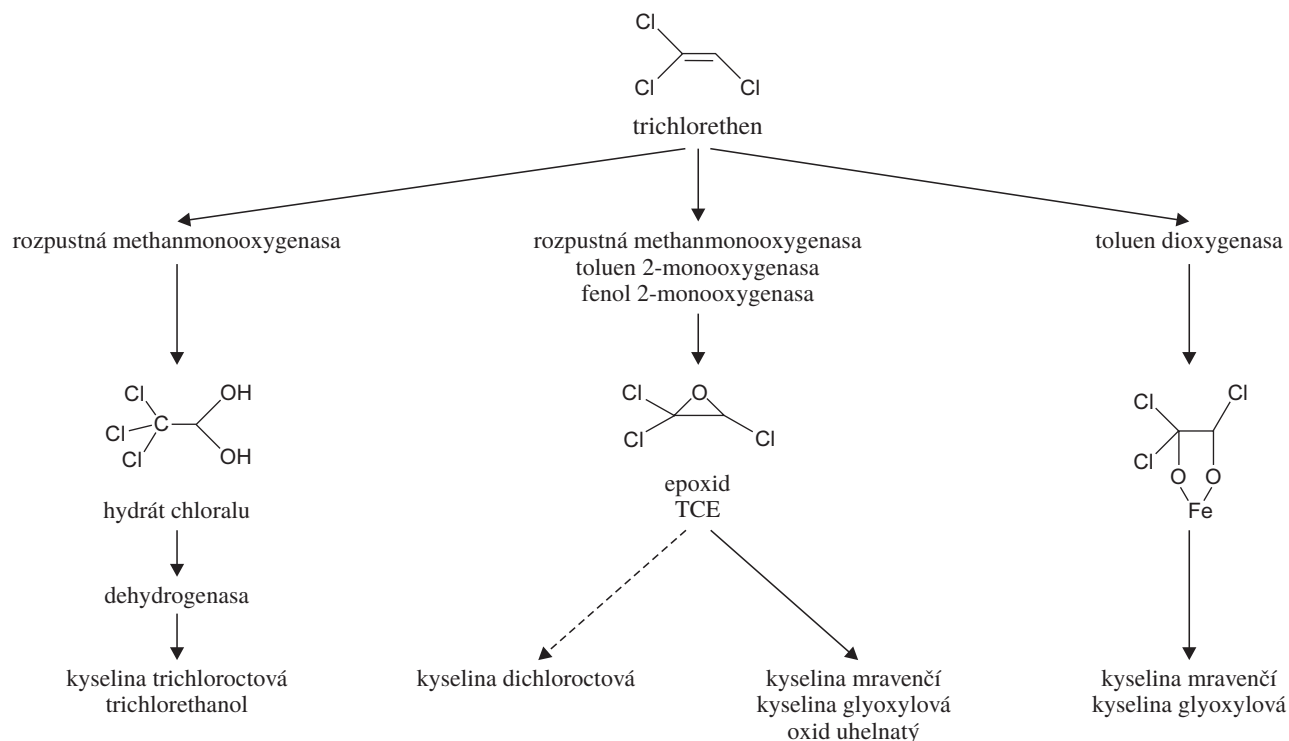
nasu či fenol-2-monooxygenasu, ztrácí i schopnost transformovat TCE (cit.^{12,20,21}). U směsných mikrobiálních kultur byly tyto závěry potvrzeny Shihem a spol., kteří zaznamenali ztrátu degrační aktivity bakterií poté, co jim místo fenolu začal být jako jediný substrát poskytován neinduktivní pyrokatechol (první meziprodukt rozkladu fenolu)²². Podle dosavadních výsledků se zdá, že katalýzy transformace TCE jsou schopny jen některé bakteriální mono- a dioxygenasy. U kvasinek či vláknitých plísní, rostoucích např. na fenolu, zatím tato schopnost zjištěna nebyla; naopak – u směsných inokul byl vždy při významnějším výskytu těchto organismů zaznamenán pokles degračních vlastností daných suspenzí^{22–25}.

Praktickou výhodou kometabolické transformace xenobiotik je možnost využití přirozených kultur bakterií. Poněkud nepříznivým aspektem je však možný vznik dead-end produktů a dále případná kompetitivní inhibice přeměny polutantu primárním substrátem. Enzymové systémy atakují přednostně přirozené substráty, a proto, jsou-li tyto látky přítomny ve vyšších koncentracích, může dojít ke zpomalení nebo úplnému zastavení biodegradace cizorodých látek. V případě degradace TCE bakteriemi degradujícími fenol bylo několikrát experimentálně ověřeno, že transformace TCE je při současné přítomnosti fenolu možná jen při dodržení poměrně úzkého rozmezí 5–10 mg fenolu na 1 mg TCE (cit.^{26,27}). Jiní autoři však zjistili, že v jejich pokusech za přítomnosti fenolu k odbourávání TCE nedocházelo vůbec²⁸ a že tedy kompetitivní inhibice požadovaný proces zcela zamezila. Zdánlivě by bylo tedy řešením úplné odstranění primárního substrátu z degrační směsi po uskutečněné enzymové indukci, avšak v takovém případě se vlivem regulačních mechanismů bakteriálních

buněk zastaví tvorba příslušných enzymů a po určité době se degrační schopnost bakterií ztratí.

3. Produkty biotransformace trichlorethenu

Není divu, že se krátce po objevu možnosti bakteriální transformace TCE objevily i snahy o její praktické využití pro dekontaminaci znečištěných lokalit. Z pohledu bioremediačních technologií je dnes největší význam přikládán methanotrofním bakteriím a bakteriím využívajícím fenol nebo toluen. Při výběru kultury pro bioremediace se přihlíží k řadě faktorů, zejména k hodnotám její transformační kapacity, k charakteru primárního substrátu, afinitě příslušného enzymu k TCE a nejvíce ke vznikajícím produktům a jejich toxicitě. Výhody využití methanotrofních bakterií spočívají především v aplikaci netoxického methanu jako substrátu a ve vyšší počáteční rychlosti degradace²⁹, zatímco ve prospěch druhů využívajících toluen nebo fenol hovoří rychlejší růst, vyšší transformační kapacity a o něco větší odolnost vůči toxickým metabolitům i snadná vazba na případný nosič³⁰. Nejvýznamnější faktor, ovlivňující výběr degračního organismu, však spočívá ve vznikajících konečných produktech degradace (obr. 1). Ty jsou závislé především na typu oxygenasy, může je však ovlivnit i ostatní enzymová výbava bakterií. Velmi příznivá je situace při transformaci katalyzované toluendioxygenasou. Ta vnáší do molekuly substrátu dva atomy kyslíku a vzniklý labilní meziprodukt poskytuje jako konečné produkty kyselinu mravenčí a glyoxylovou, přičemž organicky vázaný chlor přechází na chloridy³¹. Základním krokem biotransformace



Obr. 1. Možné degrační cesty TCE při působení různých typů oxygenas. Chlor vázaný v molekule TCE je transformován na chloridy (<http://www.labmed.umn.edu/>, the University of Minnesota Biocatalysis/Biodegradation database)

TCE při katalýze monoxygenasami je přeměna na epoxid TCE (cit.³²⁻³⁴). Tento meziprodukt je značně nestabilní (poločas rozpadu okolo 10 s) a podléhá spontánní víceetapové hydrolyze na konečné produkty. Těmi jsou rovněž kyseliny mravenčí a glyoxylová, dále chloridy a určité množství oxidu uhelnatého, jak bylo popsáno u bakterie *Burkholderia cepacia* vybavené toluen-2-monoxygenasou³³. U některých bakterií, zejména methanotrofních, je však TCE transformován nejen na epoxid TCE, ale i na chloral (2,2,2-trichloroacetaldehyd) a dále na konečné produkty: kyseliny dichloroctovou, trichloroctovou a trichlorethanol^{32,35}, což jsou látky, jejichž toxicita je vyšší nebo srovnatelná s původním TCE. Teprve nedávno byla objasněna i dráha biotransformace TCE za účasti fenol-2-monoxygenasy. Bylo zjištěno, že daná degrační cesta je prakticky shodná s dráhou u toluen-2-monoxygenasy, tj. výhradně přes epoxid TCE, se vznikem kyseliny mravenčí, glyoxylové a oxidu uhelnatého³⁴. Ishida a Nakamura³⁴ prokázali, že při aplikaci bakterií *Ralstonia* sp. KN1-10A s fenol-2-monoxygenasovou aktivitou dochází ke kvantitativnímu uvolňování organicky vázaného chloru ve formě chloridů a tím k eliminaci těch nejproblémovějších částí molekuly TCE.

Na základě těchto výsledků by se mohlo zdát, že favority pro bioremediační postupy jsou bakteriální druhy rostoucí na fenolu nebo toluenu, jiné výsledky však ukazují, že situace není tak jednoznačná – např. Sun a Wood zjistili²⁹, že methanotrofní bakterie *Methylosinus trichosporium* OB3b dokáže převést organicky vázaný chlor z TCE kvantitativně na chloridy (změřená míra mineralizace 102 %), zatímco u druhů rostoucích na aromátech byla schopnost mineralizace o něco nižší – u *Pseudomonas mendocina* KR1 85 %, u *Burkholderia cepacia* GR 62 % a u *Pseudomonas putida* F1 jen 51 %. Je tedy zřejmé, že míra mineralizace chloru a spektrum konečných produktů jsou různé u různých kultur a výsledky získané u některé z nich nelze zobecňovat. Vysvětlením rozdílných výsledků by mohl být spontánní vznik kyseliny dichloroctové z epoxidu TCE (cit.³⁶), která může být dále dechlorována a převáděna na kyselinu glyoxylovou. Reakce však není katalyzována oxygenasami, ale jinými mikrobiálními enzymy a průběh je tedy závislý na enzymové výbavě použitého mikroorganismu.

Poněkud jiná situace je však v případě aplikace směsných mikrobiálních kultur – Chang a Alvarez-Cohen dokázali, že při transformaci TCE je produkce konečných produktů u mikrobiální směsi rostoucí na methanu obdobná jako u směsných kultur kultivovaných na fenolu, propanu nebo toluenu³⁷. Při studiích s TCE značeným ¹⁴C zjistili, že TCE je všemi směsnými kulturami transformován z 65–70 % na CO₂, z 25–30 % na netěkavé, ve vodě rozpustné sloučeniny a jen 1–5 % přechází na těkavé sloučeniny. I produkce chloridů byla ve všech případech srovnatelná a přesahovala 95 % teoretického množství.

Samostatnou kapitolou je otázka toxicity vznikajících metabolitů. Nebezpečím pro degradující bakterie může být několik metabolitů včetně epoxidu TCE, neboť bylo zjištěno, že např. toluen-2-monoxygenasa je v pokusech *in vitro* významně inaktivována kovalentní modifikací v průběhu přeměny TCE (cit.³³). Další autoři prokázali, že poškození buněk *Burkholderia cepacia* má charakter oxidačního stresu³⁸. Na druhé straně však existují práce popisující průběh biotransformace TCE bez zjevného poškození klíčového enzymu^{26,39}, a tak

i zde tedy existuje značná závislost na použité degrační kultuře a podmínkách vlastního biologického procesu.

4. Aplikace bakteriálních kultur pro dekontaminaci podzemních vod

Prakticky lze biologickou degradaci TCE provádět jak pomocí směsných, tak i čistých kultur bakterií, včetně využití geneticky upravených kmenů. Jednotlivé skupiny mají své výhody i zápory. Výhodou směsných kultur, např. adaptovaného aktivovaného kalu nebo sedimentu, je především zastoupení velkého spektra bakteriálních druhů v získané směsi. Případný vznik nežádoucích metabolitů a jejich toxické účinky jsou málo pravděpodobné vzhledem k bohatému enzymovému vybavení takové kultury. Nedochozí zde však k selekci kmenů s vysokou účinností biotransformace TCE a degrační schopnost takového konsorcia může při dlouhodobější kultivaci značně kolísat²³⁻²⁵. Případný pokles degrační aktivity směsné kultury bývá způsoben úbytkem degračních bakterií, které mohou být ve srovnání s dalšími přítomnými druhy více citlivé k toxickým účinkům TCE a meziproduktů jeho rozkladu⁴⁰. Tuto nevýhodu lze odstranit aplikací čistých nebo definovaných kultur se známými vlastnostmi. Dnes je již dostatek odborných prací dokládajících, že úspěšná biotransformace TCE může být uskutečněna jediným, dobře prostudovaným bakteriálním kmenem^{26,28,29,41}. Tato cesta může být dnes ještě umocněna aplikací geneticky upravených organismů (GMO), např. se stálou (konstitutivní) produkcí oxygenasy. To umožňuje při kultivaci degrační kultury vyloučení primárního substrátu, a tím i odstranění problému kompetitivní inhibice při vlastní degradaci polutantu. Zajímavým příkladem může být schopnost kmene *Ralstonia eutropha* AEK301/pYK3021 degradovat TCE i při jeho velmi vysokých vstupních koncentracích 100–200 mg.l⁻¹ (cit.⁴²). Genetické úpravy však nabízí i další možnosti vylepšení vlastností degračních kultur – je možné umístit geny, kódující potřebné oxygenasy, pod kontrolu regulačních jednotek spouštěných při nedostatku živin (tzv. starvation promotorů), což vede ke zvýšení degrační aktivity pomalu rostoucích buněk a k nízké produkci biomasy. Matin a spol. tak zkonstruovali *Escherichia coli* AMS187, která degradovala TCE při cca 100× nižší produkci biomasy ve srovnání s přirozenými bakteriemi, byl reakční rychlost byla poměrně nízká⁴³. Do budoucna lze uvažovat i o řízené konstrukci degračních enzymů s vysokou afinitou k polutantu. K tomu by měly přispět i znalosti o aminokyselinových sekvencích oxygenas bakteriálních kmenů s vysokou rychlostí degradace TCE, jak je prezentovali např. Futamata a spol. při sledování vztahu mezi primární strukturou α -podjednotek fenol-2-monoxygenasy a degrační aktivitou různých bakteriálních kmenů²⁸.

I přes řadu úspěšných pokusů o konstrukci GMO odstraňujících TCE (cit.^{34,42,44,45}) je však zatím jejich praktická aplikace otevřená – je otázkou, zda náklady na jejich vývoj a také doba potřebná k legislativnímu schvalovacímu procesu budou adekvátní míře intenzifikace procesu, nehledě na postoj části veřejnosti k využívání GMO. Lze si ovšem představit stav, kdy by většina znečištěných lokalit (s nízkými až středními koncentracemi TCE) byla dekontaminována pomocí přirozených kultur a jen místa s velmi vysokým až extrémním zatížením by byla prostorem pro aplikaci schválených GMO.

Závěrem lze uvést několik příkladů terénních pokusů o dekontaminace prostředí za pomoci různých kultur mikroorganismů. Významná je série studií z testovacího místa Moffett Field v Kalifornii, kde byly prováděny pilotní experimenty degradací TCE a později i dalších chlorovaných uhlovodíků za využití přirozené mikroflóry. Ve zkouškách s TCE bylo prokázáno, že injekcí fenolu do kontaminovaných podzemních vod spolu s kyslíkem je možné dosáhnout výrazného úbytku TCE. Při kontaminaci do 500 $\mu\text{g.l}^{-1}$ bylo po 30 hodinách od injekce fenolu (12,5 mg.l^{-1}) a kyslíku (35 mg.l^{-1}) dosaženo poklesu TCE o 87–89 %, při kontaminaci 1000 $\mu\text{g.l}^{-1}$ byl za stejných podmínek pokles TCE kolem 77 %, avšak po zvýšení dávky fenolu na 25 mg.l^{-1} bylo odstraněno 90 % TCE (cit.⁴⁶). Později byla prokázána i úspěšná degradace TCE při aplikaci toluenu (9 mg.l^{-1}) a také úbytek 1,2-dichloroethenů (DCE), (Z) i (E) (cit.⁴⁷). Obdobný proces, založený na injektáži methanu, kyslíku a minerálních živin, byl vyzkoušen v Japonsku, kde šlo o pokus dekontaminace podzemních vod v bezprostředním okolí domu. Při koncentraci TCE 220 $\mu\text{g.l}^{-1}$ bylo sice po týdenním procesu odstraněno jen 10–20 % polutantu, autoři však hodnotí postup jako bezpečný způsob dekontaminace prostředí v zástavbě⁴⁸. Zcela jiného charakteru byla terénní zkouška bioremediace podzemních vod, kontaminovaných směsí chlorovaných uhlovodíků, a to za použití GMO *Burkholderia cepacia* ENV435 s konstitutivní produkcí toluen-2-monooxygenasy. Několik set litrů kultury tohoto mikroorganismu bylo injikováno spolu s kyslíkem do podzemní vrstvy. Vzhledem k rozdílnému transportu bakterií byly v několika měřených vrtech zaznamenány mírné rozdíly v úbytku chlorovaných ethenů, avšak v nejprůkaznějším případě došlo k poklesu těkavých organických látek z hodnoty cca 2200 $\mu\text{g.l}^{-1}$ na 250 $\mu\text{g.l}^{-1}$ a místně dokonce pod 50 $\mu\text{g.l}^{-1}$ (cit.⁴⁹).

Z uvedených údajů je zřejmé, že bakteriální aerobní degradace trichlorethenu je reálnou alternativou fyzikálně-chemických postupů dekontaminace znečištěných lokalit od chlorovaných ethenů, s dobrými vyhlídkami na úplnou mineralizaci uvedeného polutantu, vyžadující však dokonalou znalost procesu a důkladné ověření použité mikrobiální kultury.

LITERATURA

1. Abrahamsson K., Ekdahl A., Collén J., Pedersén M.: *Limnol. Oceanogr.* 40, 1321 (1995).
2. Dimmer C. H., McCulloch A., Simmonds P. G., Nickless G., Bassford M. R., Smythe-Wright S.: *Atmos. Environ.* 35, 1171 (2001).
3. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR): *Public Health Statement, Trichloroethylene, 1989*. <http://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/phs8824.html>, staženo říjen 2000.
4. Johnson P. D., Dawson B. V., Goldberg S. J.: *Environ. Health Perspect.* 106, 995 (1998).
5. Vogel T. M., Criddle C. S., McCarty P. L.: *Environ. Sci. Technol.* 21, 722 (1987).
6. Krug M., Straube G.: *J. Basic Microbiol.* 26, 271 (1986).
7. Wilson J. T., Wilson B. H.: *Appl. Environ. Microbiol.* 49, 242 (1985).
8. Haber C. L.: *Science* 221, 1147 (1983).
9. Fogel M. M., Taddeo A. R., Fogel S.: *Appl. Environ. Microbiol.* 51, 720 (1986).
10. Uchiyama H., Nakajima T., Yagi O., Tabuchi T.: *Agric. Biol. Chem.* 53, 1019 (1989).
11. Nelson J. K., Montgomery S. O., Mahaffey W. R., Pritchard P. H.: *Appl. Environ. Microbiol.* 53, 949 (1987).
12. Nelson J. K., Montgomery S. O., Pritchard P. H.: *Appl. Environ. Microbiol.* 54, 604 (1988).
13. Chauhan S., Barbieri P., Wood T. K.: *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 3023 (1998).
14. Krumme M. L., Timmis K. N., Dwyer D. F.: *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 2746 (1993).
15. Dabrock B., Riedel J., Bertram J., Gottschalk G.: *Arch. Microbiol.* 158, 9 (1992).
16. Malachowsky K. J., Phelps T. J., Teboli A. B., Minnikin D. E., White D. C.: *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 542 (1994).
17. Ensign S. A., Hyman M. R., Arp D. J.: *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 3038 (1992).
18. Takami W., Horinouchi M., Nojiri H., Yamane H., Omori T.: *Biotechnol. Lett.* 21, 259 (1999).
19. Arciero D., Vannelli T., Logan M., Hooper A. B.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 159, 640 (1989).
20. Shields M. S., Montgomery S. O., Cuskey S. M., Chapman P. J., Pritchard P. H.: *Appl. Environ. Microbiol.* 57, 1935 (1991).
21. Wackett L. P., Gibson D. T.: *Appl. Environ. Microbiol.* 54, 1703 (1988).
22. Shih C., Davey M. E., Zhou J., Tiedje J. M., Criddle C. S.: *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 2953 (1996).
23. Skočovská P.: *Diplomová práce*. VUT, Brno 1998.
24. Jasenská P.: *Diplomová práce*. VUT, Brno 1999.
25. Sergejevová M.: *Doktorská disertační práce*. Univerzita T. Bati, Zlín 2003.
26. Folsom B. R., Chapman P. J., Pritchard P. H.: *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 1279 (1990).
27. Shurtliff M. M., Parkin G. F., Weathers L. J., Gibson D. T.: *J. Environ. Eng.* 122, 581 (1996).
28. Futamata H., Harayama S., Watanabe K.: *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 4671 (2001).
29. Sun A. K., Wood T. K.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 45, 248 (1996).
30. Speitel G. E., Segar Jr. R. L.: *Water Sci. Technol.* 31, 215 (1995).
31. Li S., Wackett L. P.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 29, 443 (1992).
32. Nakajima T., Uchiyama H., Yagi O., Nakahara T.: *Bio-sci., Biotechnol., Biochem.* 56, 486 (1992).
33. Newman L. M., Wackett L. P.: *J. Bacteriol.* 179, 90 (1997).
34. Ishida H., Nakamura K.: *J. Biosci. Bioeng.* 89, 438 (2000).
35. Saeki S., Mukai S., Iwasaki K., Yagi O.: *Biocatal. Bio-transform.* 17, 347 (1999).
36. Henschler D., Hoos W. R., Fetz H., Dallmeier E., Metzler M.: *Biochem. Pharmacol.* 28, 543 (1979).
37. Chang H. L., Alvarez-Cohen L.: *Biotechnol. Bioeng.* 45, 440 (1995).
38. Yeager C. M., Bottomley P. J., Arp D. J.: *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 2107 (2001).
39. Bielefeldt A. R., Stensel H. D., Strand S. E.: *J. Environ. Eng.* 121, 791 (1995).
40. Mars A. E., Prins G. T., Wietjes P., Koning W., Janssen D. B.: *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 208 (1998).

41. Oldenhuis R. L., Vink J. M., Janssen D. B., Witholt B.: *Appl. Environ. Microbiol.* 55, 2819 (1989).
42. Ayoubi P. J., Harker A. R.: *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 4353 (1998).
43. Matin A., Little C. D., Fraley C. D., Keyhan M.: *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 3323 (1995).
44. Sun A. K., Wood T. K.: *Biotechnol. Bioeng.* 55, 674 (1997).
45. Takami W., Nojiri H., Yamane H., Omori T.: *Biotechnol. Lett.* 22, 211 (2001).
46. Hopkins G. D., Munakata J., Semprini L., McCarty P. L.: *Environ. Sci. Technol.* 27, 2542 (1993).
47. Hopkins G. D., McCarty P. L.: *Environ. Sci. Technol.* 29, 1628 (1995).
48. Eguchi M., Kitagawa M., Suzuki Y., Nakamura M., Kawai T., Okamura K., Sasaki S., Miyake Y.: *Water Res.* 35, 2145 (2001).
49. Steffan R. J., Sperry K. L., Walsh M. T., Vainberg S., Condee C. W.: *Environ. Sci. Technol.* 33, 2771 (1999).

M. Sergejevová^a and J. Růžička^b (^a*Department of Physical Biology, University of South Bohemia, České Budějovice, Nové Hradý,* ^b*Department of Environmental Technology and Chemistry, Tomáš Bata University, Zlín*): **Potentials of Aerobic Microbial Degradation of Trichloroethene**

The article reviews contemporary basic knowledge of microbial degradation of trichloroethene. It gives a number of literature data on key enzymes, appropriate microorganisms, degradation products and also suggests unclarified problems of the process. Perspectives of microbiological decontamination of underground waters by possibly complete mineralization of the pollutant are discussed. The key role is attributed to the choice of an appropriate microorganism.

BIODEGRADÁCIA A BIOREMEDIÁCIA PENTACHLÓRFENOLU (PCP)

KATARÍNA DERCOVÁ^{a,*}, ZUZANA KYSELOVÁ^a,
GABRIELA BARANČIKOVÁ^b,
ZUZANA SEJÁKOVÁ^a a ANNA MALOVÁ^a

^aKatedra biochemickej technológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, ^bVýskumný ústav pôdoznanectva a ochrany pôdy, Reimannova 1, 080 01 Prešov, Slovenská republika
e-mail: dercova@chtf.stuba.sk

Došlo 7.3.02, prepracované 17.10.02, prijaté 12.1.03.

Kľúčové slová: biostimulácia, bioaugmentácia, bioremediácia, degradácia, pentachlórphenol, PCP

Obsah

1. Úvod
2. Fenol a jeho chlórderiváty – zdroje, výskyt
3. Chemická štruktúra a vlastnosti PCP
4. Mikrobiálna degradácia chlórphenolov
 - 4.1. Aeróbná degradácia chlórphenolov
 - 4.2. Anaeróbná degradácia chlórphenolov
5. Faktory ovplyvňujúce biodegradáciu PCP
6. Bioremediačné technológie používané pri dekontaminácii PCP
 - 6.1. Čistenie pôdy
 - 6.2. Kompostovanie
 - 6.3. Pôdne hromady
 - 6.4. Kalové hospodárstvo
 - 6.5. Biovzdušnenie a kropenie vzduchom
 - 6.6. Bioaugmentácia
7. Génové inžinierstvo
8. Limitácie a možnosti bioremediačných technológií
9. Záver

1. Úvod

Znečistenie životného prostredia v súčasnom období nabúda čoraz väčšie rozmery. Každoročne sa na svetových trhoch objavuje viac než tisíc nových chemikálií, ktorých osud a správanie sa v prírode je možné iba ťažko predvídať. Neustále sa zvyšujúca priemyselná výroba a intenzívne poľnohospodárstvo sú príčinou vysokej koncentrácie látok, ktoré nemajú prírodný charakter a sú „cudzie“ životnému prostrediu. Veľké množstvo organických zlúčenín vyrábaných človekom je halogénovaných, čo je príčinou ich perzistencie v životnom prostredí. Chlóraromáty patria medzi vážne a nebezpečné

kontaminanty v dôsledku vysokej priemyselnej produkcie, značnej perzistencie, bioakumulácie a toxicity. Navyiac, tieto látky patria k nebezpečným škodlivinám, t.j. sú charakteristické takými vlastnosťami, ktoré môžu byť príčinou poškodenia zdravia ľudí a poškodenia životného prostredia.

Veľkú skupinu chlóraromátov predstavujú chlórphenoly, ktoré sa v dôsledku svojich vynikajúcich vlastností intenzívne využívajú v mnohých odvetviach priemyslu i poľnohospodárstva viac ako 50 rokov. Okrem toho, že sa využívajú ako antiseptické a selektívne rozpúšťadlá, v životnom prostredí sa vyskytujú aj ako medzi produkty degradácie pesticídov. Z tohto dôvodu sa v značných koncentráciách nachádzajú v pôde, vode i sedimentoch.

Najväčšie využitie medzi chlórphenolmi má pentachlórphenol (PCP), ktorý sa ešte v nedávnej minulosti intenzívne používal ako všestranný herbicíd, fungicíd a insekticíd, pri ochrane a konzervácii dreva a pri pestovaní ryže. PCP sa v pôde nachádza aj ako degradačný produkt bežne používaných pesticídov (lindánu, pentachlórbenzenu, fenoxycetovej kyseliny a hexachlórbenzenu). V dôsledku toxicity a veľkého rozšírenia v životnom prostredí patrí medzi najviac študované phenoly.

Neustály tlak priemyselnej výroby, tlak rôznych ekologických organizácií a v neposlednej rade požiadavka čo najmenej ekonomickej náročnosti posunuli do popredia záujmu výskumu prírodné procesy, umožňujúce bez väčších finančných požiadaviek a ďalšej záťaže pre prírodu odstrániť kontamináciu. Remediacné technológie, využívajúce biologické postupy degradácie kontaminantov, predovšetkým metabolickú činnosť mikroorganizmov, sa nazývajú bioremediácie. Bioremediačné technológie sa javia ako perspektívna ekologická a ekonomická alternatíva fyzikálno-chemických postupov odstraňovania kontaminantov.

2. Fenol a jeho chlórderiváty

Fenol a jeho chlórderiváty patria medzi bežné polutanty vodných zdrojov a pôdy, pričom ich pôvod býva rozmanitý. Chlórphenoly a najmä pentachlórphenol patrili medzi široko používané biocídy v priemyselných odvetviach a v poľnohospodárstve už od roku 1920. Chlórphenoly boli všestranne používané vďaka ich rozpustnosti v organických rozpúšťadlách, ako aj rozpustnosti v sodných soliach. Jedným z najdôležitejších použití bola ochrana čerstvo spíleného dreva proti hubám poškodzujúcim miazgu a tiež pre dlhodobú ochranu drevenej guľatiny, železničných podvalov a stavebného dreva. PCP sa tiež používali ako biocídne prísady do farieb a rôznych druhov olejov a ako herbicídy na ryžových poliach^{1,2}.

Sú známe aj iné zdroje chlórphenolov okrem vyššie uvedených využití ako biocídov. Chlórphenoly sú intermediátmi v syntézach iných biocídov, napríklad herbicídu kyseliny 2,4-dichlórphenoxycetovej (2,4-D) a kyseliny 2,4,5-

* Autor pre korešpondenciu

-trichlórfenoxyoctovej (2,4,5-T) (cit.³). 2,4-Dichlórfenol a 2,4,5-trichlórfenol sú produkty mikrobiálneho rozkladu týchto herbicídov. 2,4-D je jeden z najpoužívanejších herbicídov na svete.

Veľké množstvo chlórovaných organických zlúčenín, vrátane chlórovaných fenolov, je produkované počas chemického bielenia chlóróm. Nové spôsoby bielenia výrazne znižujú hladinu chlórovaných fenolov⁴. Chlórfenoly sú analogicky tvorené počas chlorácie pitnej vody obsahujúcej humínové látky⁵. Vznikajú tiež počas horenia organického materiálu v prítomnosti chlóru, napríklad spaľovaním mestských tuhých odpadov alebo počas horenia čerstvého dreva, pričom unikajú do ovzdušia^{6,7}. Chlórfenoly sú teda globálne polutanty, ktoré boli nájdené aj v sedimentoch jazier odľahlých od priemyselných centier⁸. Boli nájdené v usadeninách slojov starších ako 50 rokov pred započatím priemyselnej výroby, z čoho vyplýva, že vznikli pravdepodobne pri lesných požiaroch. Okrem toho je zaujímavé, že niektoré chlórfenoly sú biologického pôvodu, napríklad 2,6-dichlórfenol je feromónom kliešťov^{9,10}. Chlórfenoly nie sú teda výhradne antropogénneho pôvodu.

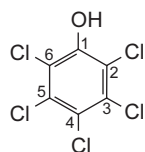
Chlórované aromáty predstavujú nebezpečné kontaminanty pre celý ekosystém. Ich koncentrácia v pôde, morských a sladkých vodách sa monitoruje nielen na území štátov Európskej únie¹¹, ale aj v ázijských krajinách, napr. v Číne¹². O ich závažnom vplyve na zdravie ľudského organizmu, akútnych aj chronických účinkoch, mutagénnych, karcinogénnych a teratogénnych účinkoch¹³ svedčia mnohé práce a štúdie pojednávajúce o prítomnosti týchto polutantov v potravinách¹⁴.

3. Chemická štruktúra a vlastnosti PCP

Pentachlórfenol (PCP) je organická zlúčenina (C_6Cl_5OH) vyrábaná katalytickou chloráciou fenolu, ale aj prírodou produkovaná aromatická zlúčenina (obr. 1). Je stabilný, rozpustný vo väčšine organických rozpúšťadiel, mierne rozpustný vo vode a čiastočne prchavý. Stabilita PCP súvisí s jeho štruktúrou – na aromatické jadro je naviazaných päť atómov chlóru. Jediná hydroxylová skupina sa nachádza v polohe 1 a zodpovedá za účasť pentachlórfenolu v nukleofilných reakciách.

Technická zmes PCP, ako bežná komerčne dostupná forma, je svetlohnedá alebo sivá kryštalická látka. Pozostáva z 85 % z PCP, 4–8 % tvorí tetrachlórfenol, 2–6 % nižšie chlórované fenoly a v stopových množstvách sa vyskytujú chlórované dibenzo-*p*-dioxíny a chlórované dibenzofurány¹⁵, ktoré obsahujú 6–8 atómov chlóru. Komerčne dostupná je aj sodná soľ PCP – pentachlórfenolát sodný (NaPCP), ktorý je vo vode rozpustný. Základné fyzikálne a chemické vlastnosti PCP sú uvedené v tabuľke I.

Pre živočíchy je PCP akútne toxický. Zasahuje do oxidatívnej fosforylácie, ktorej mechanizmom dochádza k prenosu



Obr. 1. Štruktúra pentachlórfenolu (PCP)

Tabuľka I
Základné fyzikálne a chemické vlastnosti pentachlórfenolu (PCP)¹⁶

Parametr	Hodnota ¹⁶
Molekulová hmotnosť, g.mol ⁻¹	266,35
Bod topenia, °C	190,2
Bod varu, °C	300,6
Hustota, g.cm ⁻³	1,85
Rozpustnosť vo vode, g.l ⁻¹	
0 °C	0,005
20 °C	0,014
30 °C	0,020
50 °C	0,035
70 °C	0,085
Rozpustnosť v org. rozpúšťadlách, g.l ⁻¹ , pri 25 °C	
metanol	180
acetón	50
benzén	15
pK _a , pri 25 °C	4,70
log K _{ow} , pri 25 °C	5,01

elektrónu cez dýchací reťazec až na kyslík a zabraňuje tak syntéze ATP. Prístup PCP do tela jedinca nastáva vdychnutím, požitím alebo absorpciou cez pokožku. Medzi symptómy prejavujúce sa v styku s PCP patria dermatitídy, podráždenie očí, nosnej dutiny, hltana, dýchacie problémy, hyperglykémia, zvýšený krvný tlak a iné kardiovaskulárne ťažkosti¹⁶. Dávka PCP nespôsobujúca ťažkosti (udávaná ako NOEL tzn. no-observable-effects level) je množstvo PCP, ktoré je schopné organizmu prijať bez následných symptomatických prejavov. Fetotoxický limit NOEL predstavuje 5,8 mg PCP na 1 kg telesnej hmotnosti za deň. Limit NOEL pre chronickú toxicitu je 3 mg na 1 kg a deň. Hodnota NOEL pre 2,4,5-trichlórfenol je 500 mg na 1 kg a deň¹⁷. Pre porovnanie fetotoxický limit NOEL pre chlórované dioxíny je 1 µg na 1 kg a deň. Mutagenicita PCP zatiaľ nebola preukázaná, ale je známy jeho embryo toxický a embryoleťálny účinok na potkany¹⁶. U väčšiny živočíšnych druhov je PCP metabolizovaný a eliminovaný z tela von.

Pre rôzne rastlinné druhy má PCP fytotoxický účinok. Prítomnosť PCP bola dokázaná v listoch stromov, vyššie koncentrácie PCP boli nájdené v ihličí borovic¹⁸. Tento spôsob zachytávania PCP zo znečisteného ovzdušia by bol zvlášť výhodný pre monitorovanie vzdušnej kontaminácie.

Legislatívna úprava MP SR z roku 1994, určujúca najvyššie prípustné hodnoty škodlivých látok v pôde, stanovuje tri stupne závažnosti znečistenia – A, B, a C (cit.¹⁹). Referenčná hodnota A znamená, že pôda nie je kontaminovaná, ak je koncentrácia látky pod touto hodnotou. Indikačná hodnota B znamená, že kontaminácia bola analyticky preukázaná a je nevyhnutné ďalšie monitorovanie znečisteného miesta. Indikačná hodnota C pre sanáciu znamená, že je nutné okamžite vykonať analytické zmapovanie rozsahu poškodenia príslušného miesta a rozhodnúť o spôsobe nápravného opatrenia. Limitné hodnoty pre PCP sú nasledovné: A = 0,1 mg.kg⁻¹ suchej pôdy; B = 1 mg.kg⁻¹ suchej pôdy; C = 10 mg.kg⁻¹ suchej pôdy.

4. Mikrobiálna degradácia chlórphenolov

Biodegradácia je vo všeobecnosti biologický rozklad organického polutantu účinkom enzýmovej aktivity. Jej koncovými produktami sú oxid uhličitý, voda, prípadne ďalšie anorganické zlúčeniny, napr. amoniak, sírany. Takúto biodegradáciu možno označiť ako úplnú, nazývanú aj mineralizácia. Biodegradácia je súhrnom viacerých reakcií nadväzujúcich na seba alebo vzájomne sa podmieňujúcich. Jednotlivé kroky, spôsobujúce čiastkové zmeny v štruktúre xenobiotika, sa označujú ako biotransformácia.

K odstráneniu PCP môže dôjsť abiotickými procesmi, ako sú prchavosť, fotorozklad a adsorpcia. Biotickú degradáciu môžu uskutočniť rastliny, živočíchy a mikroorganizmy²⁰. Bolo izolovaných niekoľko druhov aeróbných baktérií a húb schopných využívať chlórphenoly ako zdroje uhlíka a energie. Možnosťou biodegradácie PCP kmeňmi *Flavobacterium gleum*, *Agrobacterium radiobacter* a *Pseudomonas* sp. sa zaoberali Yu a Ward²¹.

Aeróbne chlórphenoldegradujúce baktérie možno rozdeliť na základe ich substrátovej špecificity a mechanizmu degradácie do dvoch skupín:

1. kmene degradujúce mono- a dichlórphenoly
2. kmene degradujúce tri-, tetra-, a pentachlórphenoly

Polychlórované phenoly sú vo všeobecnosti degradované v prvom štádiu dechloráciou cestou hydroxylácie (ide o nahradenie substituenta chlóru hydroxyskupinou) a redukčnej dechlorácie. Po odstránení všetkých alebo väčšiny substituentov chlóru dochádza k štiepeniu aromatického kruhu. Centrálnym intermediátom v degradácii tri-, tetra- a pentachlórphenolov sú chlórované hydrochinóny. Na druhej strane mono- a dichlórphenoly sú vo všeobecnosti degradované cez intermediát chlórovaných pyrokatecholov s dechloráciou až po rozštiepení aromatického jadra. Anaeróbne baktérie dechlórujú chlórphenoly redukčne, ale neatakujú aromatický kruh. V hubách je na degradáciu polychlórovaných phenolov potrebná prítomnosť lignín- a mangán-peroxidázového komplexu, kým monochlórphenoly sú degradované cez chlórpyrokatecholy²².

4.1. Aeróbná degradácia chlórovaných phenolov

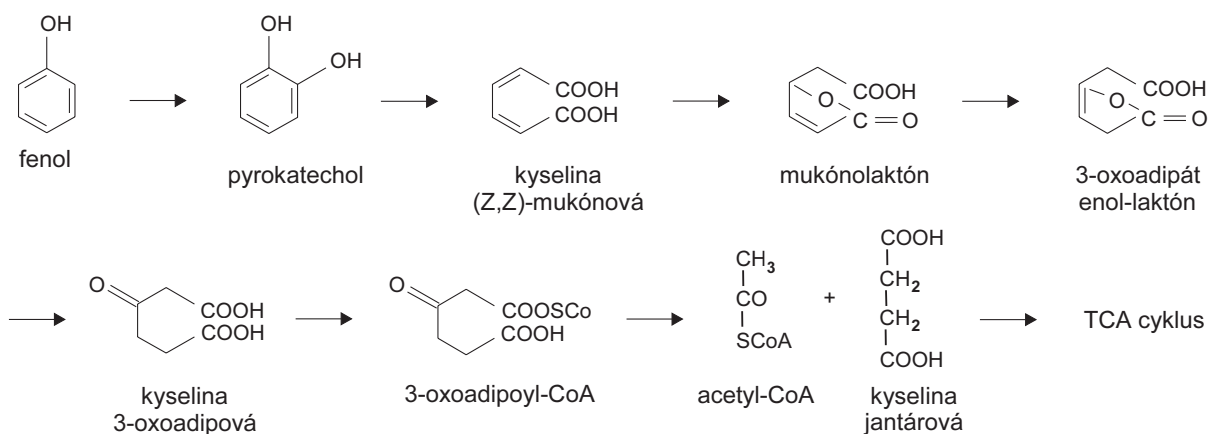
Mnohé štúdie biodegradácie chlórphenolov sa sústreďovali na objasnenie tejto metabolickej dráhy a poukázali na spoloč-

ný metabolický krok aeróbných organizmov. V tomto kroku sa za spotreby kyslíka aduje hydroxyskupina na štruktúru phenolu a dochádza k oxygénácii phenolu phenolhydroxylázovými enzýmami za tvorby pyrokatecholu. Zlúčeniny pyrokatecholového typu sú všeobecnými intermediátmi biodegradácie fenolických zlúčenín a boli dokázané aj pri biodegradácii benzénových jadier a bifenylov. Substitúcia dvoch hydroxyskupín vo vzájomnom *orto*-postavení umožňuje enzymatické rozštiepenie kruhu za vzniku organických kyselín, ktoré podliehajú ďalším reakciám za vzniku metabolitov, ktoré sa môžu zapojiť do cyklu trikarboxylových kyselín^{13,23} (obr. 2). Dehalogenácia phenolov s nízkym počtom atómov chlóru (mono- a disubstituovaných) nastáva po narušení jadra oxygenázou s následným odstránením chlóru. V prípade phenolov s vyšším stupňom chlorácie, je chlór substituovaný hydroxylom ešte pred rozštiepením kruhu.

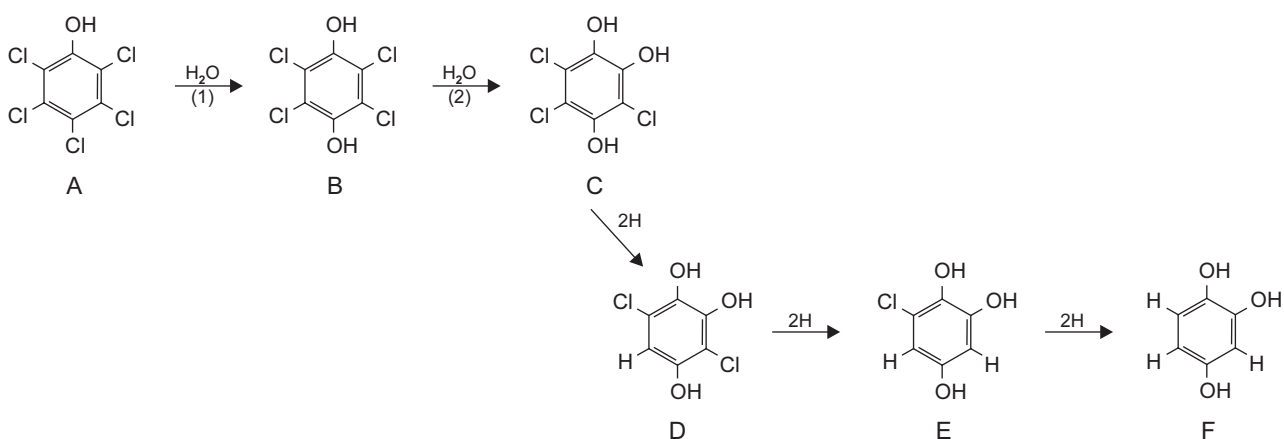
Chlórované pyrokatecholy, ako kľúčové metabolity degradácie chlórovaných phenolov, nemusia vznikáť len hydroxyláciou. Ďalšou možnou reakciou je dioxygenácia, hoci rozlíšenie medzi hydroxyláciou a dioxygenáciou nemusí byť absolútne²⁴. Rovnako môžu existovať drobné rozdiely v metabolickej dráhe – štiepenie jadra môže nastať nielen medzi dvoma kyslíkovými atómami, ale aj medzi C2-hydroxylom a vedľajším atómom uhlíka (tzv. *meta*-štiepenie) (cit.²⁵). Spôsob štiepenia pyrokatecholového jadra môže byť pre mikroorganizmus rozhodujúci, pretože metabolity *meta*-štiepenia môžu byť toxické a môžu inhibovať ďalšiu degradáciu²⁴.

Spektrum mikroorganizmov schopných využívať phenol a jeho chlórderiváty je pomerne široké a zahŕňa baktérie, kvasinky aj huby. Medzi baktérie využívajúce phenol a jeho deriváty patria: *Alcaligenes* sp.²⁶, *Pseudomonas putida*²⁷, *Arthrobacter* sp., *Flavobacterium* sp.²⁸, *Desulfivibrio* sp., *Rhodospseudomonas palustris*, *Methanospirillum hungatei*²⁹, *Desulfomonile tiedjei*^{30,31}, *Sphingomonas chlorophenolica*, *Mycobacterium chlorophenolicum*³² (obr. 3) a *Sphingomonas* sp.³³ Medzi kvasinky degradujúce phenol a jeho chlórderiváty patria: *Rhodotorula rubra*^{25,34,35}, *Fusarium flocciferum*³⁶, *Rhizobium* sp.³⁷, *Cryptococcus elinovii*²⁷ a *Candida maltosa*³⁸. Ako drevokazné huby degradujúce pentachlórphenol sú uvádzané *Phanerochaete chrysosporium*³⁹ a *Trametes versicolor*⁴⁰.

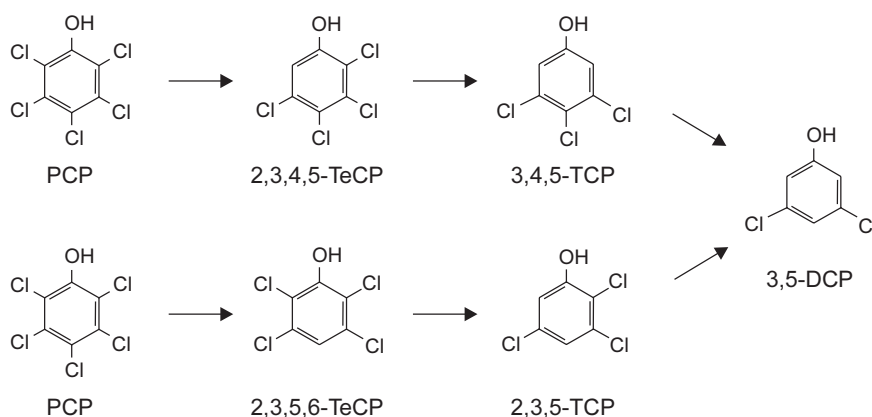
Sphingomonas chlorophenolica, baktérie mineralizujúce PCP, degradujú PCP cestou 2,6-dichlórhydrochinónu (2,6-DCHQ). Spôsob premeny PCP na 2,6-DCHQ je známy, kým



Obr. 2. Dráha *orto*-štiepenia phenolu aeróbnymi baktériami¹³



Obr. 3. Degradácia dráha PCP kmeňom *Mycobacterium chlorophenolicum*²². Zlúčeniny: A – PCP; B – 2,3,5,6-tetrachlorhydrochinón, C – 3,5,6-trichlorbenzén-1,2,4-triol, D – 3,6-dichlorbenzén-1,2,4-triol, E – 6-chlorbenzén-1,2,4-triol, F – benzén-1,2,4-triol



Obr. 4. Degradácia PCP anaeróbnymi mikroorganizmami; TeCP – tetrachlorfenol, TCP – trichlorfenol, DCP – dichlorfenol

spôsob premeny 2,6-DCHQ je nejasný. Pravdepodobne dôležitú úlohu zohráva gén *pcpA*. Predstavuje sekvenciu pre tvorbu kruhovo štiepanej dioxygenázy v spojení s hydrochinónovými derivátmi a premieňa 2,6-DCHQ na 2-chloromaleylacetát^{41,42}. Xu a spol.⁴³ sa zaoberali štúdiom génu, ktorý kóduje 2,6-DCHQ dioxygenázu. Tento enzým katalyzuje aeróbnou Fe^{2+} -dependentnú reakciu 2,6-DCHQ. Jeho prítomnosť sa deteguje kompetitívnou polymerázovou reťazovou reakciou pomocou 16 S rRNA génu⁴⁴. *Orto*-chlórphenoldehalogenáza, purifikovaná z Gram-pozitívnych baktérií *Desulfitobacterium dehalogenans*, katalyzuje redukčné odstraňovanie halogénových atómov z *orto*-pozície 2-chlorfenolu, 2,4-dichlorfenolu, 2,6-dichlorfenolu, pentachlorfenolu a 2-brom-4-chlorfenolu. Z genómu mikroorganizmu *Desulfitobacterium dehalogenans* boli izolované gény, klonované a sekvenované. Týmto postupom sa zistila prítomnosť dvoch uzavretých spojených génov *cprA* a *cprB*, ktoré umožňujú membránové ukotvenie dehalogenázy⁴⁵.

Na degradáciu PCP v odpadových vodách v laboratórnych diskontinuálnych a kontinuálnych reaktoroch boli použité voľné a imobilizované bunky *Flavobacterium* sp. Voľné bunky *Flavobacterium* sp. v diskontinuálnych reaktoroch kompletne degradovali PCP pri koncentrácii 30 a 50 mg.l^{-1} , ale iba čiastočne pri koncentrácii 65 mg.l^{-1} . *Flavobacterium* sp. imo-

bilizovaný v algináte bol schopný v kontinuálnom reaktore degradovať 60 mg.PCP.l^{-1} . Z uvedeného vyplýva, že imobilizované bunky *Flavobacterium* sp. tolerujú vyššie koncentrácie PCP než voľné bunky⁴⁶.

Inou možnosťou rozkladu chlórovaných fenolov ako aj iných chlórovaných arómatov v priemyselných odpadových vodách je použitie Fentonovej reakcie, prípadne ozonizácie^{47,48}. Biodegradáciou nízkych koncentrácií PCP v podzemných vodách autochtónnou mikroflórou sa zaoberá Schmidt a spol.⁴⁹

4.2. Anaeróbná degradácia chlórovaných fenolov

Hoci aeróbná degradácia chlórovaných fenolov je dostatočne opísaná, omnoho menej vieme o ich anaeróbnej degradácii. Aj v tomto prípade je redukčná dechlorácia kľúčovou reakciou. Ide a spol.⁵⁰ boli prví, ktorí navrhli redukčnú dechloráciu chlórphenolov v anaeróbných pôdach. Kuwatsuka a Igarashi⁵¹ a Murthy a spol.⁵² referovali o podobnej dechlorácii PCP, navrhujúc prednostné odstránenie atómov chlóru v *orto*- a *para*-polohách. Anaeróbne dechlorácie chlórphenolov boli najčastejšie študované na metanogénnych kultúrach, využívajúcich odpadové kaly, sedimenty a pôdy ako inokulum. Metanogénne degradácie chlórphenolov začínajú redukčnou

dechloráciou a vo väčšine prípadov uprednostňujú odstránenie *orto*-chlórov^{53–58}, ale dechloračné dráhy u rôznych mikrobiálnych konzorcií sa môžu líšiť. Po počiatkovej *orto*-dechlorácii zvyčajne vzniká 3,4,5-trichlórphenol. Nasleduje *para*-dechlorácia na 3,5-dichlórphenol^{59,60–62}. Dechlorácia často nie je kompletná a hromadia sa di-, tri- a tetrachlórphenoly^{30,31,63–65} (obr. 4).

5. Faktory ovplyvňujúce biodegradáciu PCP

Aby bolo možné úspešne predikovať a čiastočne aj ovplyvňovať potenciál odbúravania chlóraromátov v pôde, je potrebné dôkladne poznať ich chemické a fyzikálno-chemické vlastnosti, ako aj faktory pôdneho prostredia, ktoré môžu osud týchto xenobiotík účinne ovplyvňovať.

Snáď najdôležitejšia vlastnosť chemikálií z hľadiska ich osudu v životnom prostredí je ich rozpustnosť vo vode, pretože na základe tejto hodnoty sa posudzuje ich pohyblivosť, stabilita, rozklad, bioakumulácia a sorpcia. Na rozdiel od polychlorovaných bifenylov (PCB), ktorých rozpustnosť vo vode je veľmi nízka, majú chlórphenoly vyššiu rozpustnosť, ktorá sa znižuje so zvyšovaním počtu atómov chlóru. Hodnota rozpustnosti PCP pri teplote 20 °C a pH 7 predstavuje 14 mg.l⁻¹ (cit.⁶⁶).

Ďalšia dôležitá vlastnosť je rozdeľovací koeficient oktanol–voda K_{ow} , ktorý indikuje bioakumuláciu a biokoncentráciu chemikálií. Hodnota $\log K_{ow}$ pre PCP 5,05 je podobná nižšie substituovaným PCB a charakterizuje pomerne značnú hydrofóbnosť^{67,68}.

Veľmi dôležitou vlastnosťou organických zlúčenín z hľadiska ich osudu v pôde je hodnota adsorpčného koeficienta K_{oc} , ktorá vyjadruje tendenciu zlúčeniny nachádzať sa v pôdnom prostredí vo vodnej alebo pevnej fáze. Hodnota $\log K_{oc}$ pre PCP 5,7 znamená značnú sorpciu PCP na pôde častice. Aj táto hodnota je ovplyvnená hodnotou pH a so zvyšovaním pH sa hodnota K_{oc} zvyšuje⁶⁶.

Nemenej dôležitá vlastnosť chemických látok z hľadiska ich osudu v životnom prostredí je polčas rozpadu. V prípade PCP sa udávajú hodnoty od 10 do 120 dní, nakoľko polčas rozpadu závisí od podmienok, za akých sa látka v pôde nachádza. Augustijn-Beckers⁶⁶ udáva polčas rozpadu PCP 48 dní.

Biodegradáciu chlóraromátov v pôde môže limitovať aj množstvo environmentálnych faktorov, medzi ktoré patrí nevhodná teplota (obvykle príliš nízka, optimálna teplota pre ich biodegradáciu je 25–35 °C), neprítomnosť kyslíka, príliš vysoké alebo príliš nízke pH, nedostatok základných živín, väzba na ílové minerály a pôdny humus²². Pohyblivosť a biologická prístupnosť chlórphenolov v pôde je v priamom vzťahu k stupňu väzby alebo sorpcie na organické i anorganické pôdne komponenty, pričom mechanizmus sorpcie je značne rozdielny v závislosti od pH pôdy. Choi a Aomine⁶⁹ uvádzajú, že pri pH pôdy menšom ako pK_a hodnota (pK_a pre PCP je 4,75) sa anióny PCP zmenia pripútaním protónu na molekuly. Ak sú tieto molekuly produkované nad hranicu rozpustnosti, v systéme pôda – PCP dôjde k ich vyvráždaniu. Pri pH < 7 sa sorpcia uskutocňuje vo forme neutrálnych častíc, avšak pri pH > 7 je mechanizmus sorpcie PCP úplne odlišný. V alkalickom prostredí je takmer všetok PCP prítomný vo forme pentachlórového aniónu. Z tohto dôvodu pri pôdnej reakcii pH > 7 by mala byť uvažovaná tvorba metal-fenolátového páru, ktorý je ná-

sledne sorbovaný. Lagas⁶⁷ uvádza, že sorpcia fenolátu je pre PCP a TeCP dôležitá už v pôdach s pH > 6 a adsorpcia týchto iónov je slabšia v porovnaní s nedisociovanými fenolmi. Vplyv pH na sorpciu PCP uvádza aj Jacobsen a spol.⁷⁰ Autori zistili, že lineárne sorpčné koeficienty pri sorpcii PCP na pôdu sú primárne ovplyvňované pôdnym pH.

Ďalší výrazný faktor, ktorý ovplyvňuje mobilitu PCP v pôdnom systéme, je množstvo a kvalita pôdnej organickej hmoty (POH). Choi a Aomine⁷¹ uvádzajú, že pôdy bohaté na humus disponujú vyššou sorpciou PCP aj bez vplyvu pH. Aj ďalší autori uvádzajú podstatne vyššiu sorpciu chlóraromátov v pôdach s vysokým obsahom POH^{72,73}. Interakcia chlóraromátov s POH môže byť charakterizovaná aj ako alternatívna metóda odstránenia organických kontaminantov zo životného prostredia. Podtrieda fenolových oxidáz, známych ako katalázy, je schopná viazať xenobiotiká do humínových zlúčenín, prítomných v pôde. Inkorporácia chlórphenolov do polymérov je spôsob analogický procesu syntézy humusových látok z prirodzene sa vyskytujúcich fenolových zlúčenín a teda je možné, že xenobiotické fenoly môžu vytvárať kovalentné väzby s pôdnym humusom. Počas oxidačnej väzby dochádza aj k uvoľneniu chlóru z chlórphenolov⁷⁴ a dehalogenizácia je priamy dôkaz pre tvorbu kovalentných väzieb medzi chlórphenolmi a humínovými kyselinami počas enzymatickej kovalentnej reakcie⁷⁵. Ako kovalentne viazané reziduá sú chlórphenoly silne imobilizované a stabilizované. Túto väzbu uvádzajú Dec a Bollag⁷⁶ pri účinnej detoxifikácii xenobiotík. Zistili, že až 78 % PCP viazaného v humínových kyselinách v ňom ostáva aj po mikrobiálnom ataku. V ďalšej štúdii túto autori uvádzajú, že mikrobiálne uvoľnenie PCP zo štruktúry humínových kyselín je minimálne.

Sorpcia chlóraromátov na ílové minerály je v porovnaní s organickou hmotou minimálna. Galil a Novak⁷² zistili iba 2,6 až 19 %nú sorpciu PCP na ílovú frakciu v závislosti od pôdneho typu.

6. Bioremediačné technológie používané pri dekontaminácii PCP

Degradácia alebo deštrukcia PCP môže nastať spaľovaním, chemickou oxidáciou, fotooxidáciou alebo biologickou oxidáciou. Biologický rozklad PCP spôsobený enzymovou aktivitou mikroorganizmov nazývame biodegradácia. Bioremediačia, ktorá využíva v remediačných postupoch pri odstraňovaní kontaminantov z pôd, vôd a sedimentov mikroorganizmy a mikrobiálne procesy na rozklad kontaminantov, sa javí ako sľubná technológia, ktorá je ekonomickou a ekologickou alternatívou fyzikálno-chemickým procesom.

Biologické čistenie zložiek životného prostredia využíva genetickú diverzitu a metabolickú mnohostrannosť mikroorganizmov na transformáciu kontaminantov na menej škodlivé alebo neškodné produkty, ktoré sú potom integrované do prirodzených biogeochemických cyklov. Pochopenie ekológie, fyziológie a evolúcie degradujúcich mikroorganizmov je základnou podmienkou pre využívanie biologických postupov pri remediácii vôd, pôd a sedimentov.

V súčasnej dobe sú známe tri základné možnosti zvyšovania intenzity degradácie kontaminantov mikroorganizmami. Prvou z nich je biostimulácia prirodzenej pôdnej mikroflóry optimalizáciou podmienok prostredia prídavkom živín nevy-

hnutných pre prežitie (najčastejšie sa jedná o prídavok dusíka a fosforu), vývoj a expresiu degradačnej schopnosti mikroorganizmov. Druhou možnosťou je bioaugmentácia, ktorej cieľom je posilnenie rozkladného potenciálu prostredia inokuláciou vhodnej kultúry degradujúcich mikroorganizmov. Treťou možnosťou je úprava molekuly kontaminantu tak, aby sa zvýšila jeho bioprístupnosť a znížila jeho odolnosť voči mikrobiálnemu ataku, čo je možné dosiahnuť fyzikálno-chemickými postupmi (napr. chemickou oxidáciou). Biologické technológie pre dekontamináciu zložiek životného prostredia sú založené na využívaní schopností mikroorganizmov spotrebúvať kontaminujúce látky ako zdroje uhlíka a energie pre životné funkcie alebo ich transformácii na iné zlúčeniny v prítomnosti kosubstrátu.

Mikroorganizmy atakujú kontaminanty jedným z troch spôsobov: 1. mineralizujú zlúčeninu priamo, čo značí konverziu zlúčeniny na neškodné anorganické zlúčeniny, napr. oxid uhličitý a soli; 2. mineralizujú zlúčeninu len ako kometabolit, čo znamená, že mikroorganizmy vyžadujú ďalšie organické zlúčeniny pre rast alebo indukovanú tvorbu enzýmov potrebných pre degradáciu cieľenej zlúčeniny; a 3. konverziou zlúčeniny na inú zlúčeninu, ktorá však môže byť tiež toxická a rekalcitrantná pre ďalšiu degradáciu.

Bioremediáciu možno definovať ako kontrolované použitie biodegradácie na odstránenie toxických chemikálií z pôdy a spodnej vody. Cieľom vedeckých tímov je nájsť mikroorganizmy, ktoré sú schopné metabolizovať (alebo prinajmenšom oxidovať) cieľový kontaminant priamo na znečistenom mieste alebo v nadzemnom reaktore.

Faktory, ktoré ovplyvňujú úspešnosť bioremediácie možno sumarizovať nasledovne⁷⁷⁻⁸⁰: a) pôdna permeabilita, b) prítomnosť kyslíka, c) koncentrácia a toxicita kontaminantov, d) koncentrácia a typy živín, e) pH, f) ďalšie organické zlúčeniny, g) mikroorganizmy, h) rezistencia k ťažkým kovom, i) teplota.

Pravdepodobné príčiny neúspešnosti bioremediácie možno definovať nasledovne: a) koncentrácia polutantov v prírode môže byť natoľko nízka, že nestačí na rast inokulovaného kmeňa, b) prirodzené prostredie môže obsahovať substancie, ktoré inhibujú rast alebo aktivitu pridávaného mikroorganizmu, c) rastová rýchlosť mikroorganizmu pri nízkych koncentráciách skúmanej látky môže byť nižšia ako rastová rýchlosť jeho prirodzených konkurentov, ktorí môžu znížiť počet buniek inokula, d) pridávané mikroorganizmy môžu využívať prednostne organické substráty nachádzajúce sa v pôde na úkor deštrukcie polutantov, e) mikroorganizmy môžu mať problémy s pohybom cez pôdne póry do miest obsahujúcich polutant.

Výberu bioremediačnej metódy musí predchádzať dôkladné skúmanie distribúcie kontaminantu a jeho koncentrácie v pôde, stanovenie pôdnych fyzikálnych, biologických a geologických parametrov danej lokality. Kľúčovou úlohou je identifikácia prítomných kontaminantov, pretože pôdy kontaminované PCP často obsahujú aj ropné látky a/alebo komponenty kreozotózy. Mnohé z ropných látok sú prístupnejšie remediácii ako PCP, ale niektoré z vysokomolekulových polycyklických aromatických uhľovodíkov z kreozotózy sú značne odolné. Negatívny vplyv na rast a aktivitu bakteriálnych kmeňov a húb majú aj niektoré ťažké kovy. Vysoká koncentrácia kontaminantov (u PCP > 1000 mg.kg⁻¹) je zvyčajne toxická pre väčšinu mikroorganizmov a bioremediácia nie je možná.

Pred začiatkom bioremediácie je potrebné poznať pôdne parametre (obsah ílovitej frakcie, obsah organickej zložky, porozitu, množstvo prítomných živín, kapacitu iónomeničov a pH) a biologické parametre (množstvo a typ prítomných mikroorganizmov, ich metabolickú aktivitu, akceptory vodíka, toxicitu a obsah kyslíka^{81,82}). Ílovité pôdy sú ťažšie prístupné remediácii vzhľadom na sorpciu PCP, znížený prístup vzduchu, vody a vytváranie zhlukov. Pre zlepšenie týchto charakteristík sa do ílovitých pôd pridáva organická hmota v podobe pilín alebo slamy. Odporúčané hodnoty najvýznamnejších environmentálnych parametrov ovplyvňujúcich aeróbnym mikrobiálnym metabolizmus sú uvedené v tabuľke II.

Charakteristika lokality pre bioremediáciu zahŕňa topografiu, hydrogeológiu (sklon svahu, záplavový potenciál, hĺbka spodnej vody a jej prietok, infiltračný rozsah) a popis trojrozmernej distribúcie kontaminantu na danom mieste⁸². Laboratórne alebo pôdne predprípravné experimenty môžu dať odpoveď na otázku, či pôvodná mikroflóra je schopná degradovať PCP s prídavkom alebo bez prídavku živín, určiť polčas degradácie a potrebu bioaugmentácie. Problematike bioremediácie pentachlórfenolu, jeho transformácii v pôde, v podzemných vodách, bioaugmentácii a toxikologickým dopadom sa venujú detailne viaceré práce⁸³⁻⁸⁵. V rámci projektu „Potenciál degradácie organických polutantov“ Barančíková⁸⁶ poukázala na rozdielny osud PCP vo vybraných najdôležitejších poľnohospodársky obrábaných pôdach Slovenska, pričom sa zamerala na sledovanie rýchlosti rozkladu PCP v závislosti od rôznych pôdnych typov a počiatočnej koncentrácie PCP, schopnosti sorpcie PCP na pôdne častice a humínové kyseliny v závislosti od pH, obsahu a kvality humusu a prídavku živín. Účinkom bioaugmentácie mikrobiálnym

Tabuľka II

Odporúčané hodnoty environmentálnych parametrov ovplyvňujúcich aeróbnym mikrobiálnym metabolizmus

Environmentálny parameter	Odporúčané hodnoty pre aeróbnym mikrobiálnym biodegradáciu ^{82,88-90}
Teplota	biodegradácia detegovaná už pri 0–10 °C najčastejšie v mezofilnom rozsahu 15–35 °C v termofilnom rozsahu 40–60 °C
Pôdna vlhkosť	40–70 % MKK ^a
Množstvo rozpusteného kyslíka	>0,2 mg.l ⁻¹ , minimálne 10 % v pôdnych póroch
Živiny (C:N:P)	100–120:10:1
pH	6–8
Množstvo mikroorganizmov	1.10 ³ –1.10 ⁷ kolónií na 1 g pôdy 400 až 800 mV veľmi prevzdušnené pôdy
Redox potenciál	–100 až 100 mV stredne prevzdušnené pôdy –300 až –100 mV redukované anaeróbne pôdy

^a MKK – maximálna kapilárna kapacita – maximálne množstvo vody, ktoré je schopné pôda zadržať na jednotku objemu (%)

konzorcium adaptovaným na PCP a biostimuláciou anaeróbnej degradácie PCP v kontaminovaných pôdach sa zaoberá práca autorov Zou a spol.⁸⁷

Všetky vyššie uvedené fyzikálne, chemické a biologické faktory určujú výber správnej bioremediačnej metódy, ktorý je vo veľkej miere ovplyvnený aj cenou a dosiahnutým stupňom vyčistenia. Odhadované náklady na vyčistenie 1 m³ kontaminovanej pôdy rôznymi bioremediačnými metódami sú uvedené v tabuľke III.

Tabuľka III

Odhadované náklady na vyčistenie 1 m³ kontaminovanej pôdy rôznymi bioremediačnými metódami

Bioremediačná technológia ^{82,91}	Náklady na 1 m ³ pôdy [€]
Spaľovanie a transport	350–1600
Uskladnenie a transport	100–600
<i>In situ</i> landfarming	10–80
<i>Ex situ</i> landfarming	45–130
Kompostovanie	65–90
Pôdna hromada	65–130
Kalové hospodárstvo	104–195
Biovzdušnenie bez odstraňovania emisií	10–20
Biovzdušnenie s odstraňovaním emisií	52–78
Kropenie vzduchom	25–150

6.1. Čistenie pôdy

Jedná sa o modifikáciu fyzikálnych, chemických a biologických pôdných parametrov v záujme rozkladu nebezpečných odpadov na menej toxickú alebo netoxickú formu kontaminantu. Obrábanie pôdy (angl. landfarming) ako najpoužívanejší spôsob čistenia pôdy, predstavuje manipuláciu s pôdou pomocou klasických poľnohospodárskych operácií ako napr. preorávanie pôdy, zavlažovanie a prídavok živín.

Predprípravné fázy pre „landfarming“ zahŕňajú odstránenie vegetácie a kameňov, konštrukciu nepriepustnej bariéry okolo lokality (služi na kontrolu vtoku a výtoky vody) a úpravu sklonu svahu na 1–2 % (stupeň klesania nesmie presiahnuť 5 %). Zachytávaný vodný výluh je zavlažovacím systémom privádzaný späť do kontaminovanej pôdy.

„Landfarming“ sa uskutočňuje *in situ* alebo *ex situ*. Pri *in situ* (priamo na mieste) „landfarming“ je potrebné zabrániť prieniku kontaminovanej pôdy a vody zo znečistenej lokality do príľahlých lokalít a vodných zdrojov. Táto metodika sa využíva v prípade nepriepustného ílovitého podložia kontaminovanej pôdy a nízkeho množstva zrážok. *Ex situ* (mimo kontaminovaného miesta – vyťaženie kontaminovanej zeminy a jej dekontaminácia v uzavretých priestoroch, odizolovaných od podložia) „landfarming“ je preferovanejší, pretože environmentálne parametre ako je vlhkosť a teplota sú ľahšie regulovateľné pre dosiahnutie optimálnej mikrobiálnej aktivity vďaka zastrešeniu čistej lokality. Vo všeobecnosti je potrebné zdôrazniť, že „landfarming“ vyžaduje v porovnaní s ostatnými bioremediačnými metódami nižšie kapitálové náklady, náklady na prevádzku, údržbu a pracovnú silu. Technológia

„landfarming“ bola úspešne odskúšaná na pôdy kontaminované PCP nielen v laboratórnych podmienkach, ale aj v praxi, napr. na vyčistenie územia v okolí Libby v štáte Montana. Hunling a spol.⁹² monitorovali a dekontaminovali dané územie 60 dní. Pôdna vlhkosť bola udržiavaná na 40–70 % MKK, živiny boli pridávané podľa potreby a vzhľadom na poveternostné podmienky boli pokusné políčka aspoň raz do týždňa preorávané. Koncentrácia PCP klesla za 60 dní zo 115 mg.kg⁻¹ na 45,9 mg.kg⁻¹, čo predstavuje 60 %nú redukciu. Počas rozkladu PCP bol 36 dní.

6.2. Kompostovanie

Kompostovanie je termofilný, diskontinuálny proces prebiehajúci *ex situ* za účelom zneškodňovania odpadov s vysokou koncentráciou biodegradovateľného organického uhlíka. Optimálne kompostovacie technológie maximalizujú termofilnú mikrobiálnu aktivitu za súčasného minimalizovania pachov. Pre dekontamináciu pôdy je dôležitý obsah organickej hmoty, dostupný ľahkovyužiteľný zdroj uhlíka a aerácia^{22,80}. Prídavok ľahkovyužiteľného zdroja uhlíka (melasa, živočíšne hnojivo, odpad z rastlinnej a potravinárskej výroby) zvyšuje mikrobiálnu aktivitu, teplotu a kometabolickú degradáciu. Prídavok organickej hmoty, napr. drevných odrezkov, slamy, pilín alebo kôry zase pozitívne ovplyvňuje pôdnu porozitu, prevzdušnenie a znižuje pôdnu vlhkosť. Množstvo pridávanej organickej hmoty závisí od koncentrácie a zloženia prítomných kontaminantov. Degradácia kontaminantov technológiou kompostovania je funkciou vysokej teploty (40–60 °C), ktorá sa dosahuje vysokou mikrobiálnou aktivitou. Kompostovanie nad 60 °C vyústi v nadmerný zápach, redukciu mikrobiálnej diverzity a zníženie biologickej degradácie. Dôležitým parametrom je aj pôdna vlhkosť, ktorá by sa mala pohybovať medzi 50–60 % MKK, nad touto hodnotou sa už znižuje množstvo rozpusteného kyslíka⁹⁰.

Kompostovanie môže prebiehať v rôznych systémoch. Kompostovanie v hromadách (angl. windrow composting) predstavuje otvorený systém, v ktorom je kompost rozložený v podlhovastých hromadách a mechanicky preorávaný kvôli prevzdušňovaniu. Statické alebo vzdušnené hromady sú otvoreným systémom, v ktorom je aerácia dosahovaná umelým vzdušniacim distribučným systémom. V prípade potreby sú nebezpečné emisie zachytávané a prečisťované. Kompostovanie v reaktoroch je prepracovaná inžinierska metóda, ktorá predstavuje uzavretý reaktorový systém. Vzdušnenie je dosahované sofistikovaným zmiešavacím príslušenstvom alebo kompresorovým ventilátorom. Pri použití technológie kompostovania v reaktoroch na zneškodnenie zvlášť nebezpečných odpadov je reaktor vzduchotesne uzavretý a obsahuje kontrolný monitorovací systém emisií.

Všetky tri uvedené druhy kompostovania („windrow composting“, statické alebo vzdušnené hromady a kompostovanie v nádobách) sú v porovnaní s „landfarmingom“ menej náročné na priestor, avšak prevádzkové náklady sú vyššie v dôsledku nutnosti výkopových prác, prevozu a manipulácie s pôdou pri premiešavaní.

Dobrym príkladom použitia technológie kompostovania v hromadách je remediácia pôdy znečistenej chlórorganickými fenolmi vo Fínsku⁹³. Technická zmes pozostávajúca z PCP, 2,4,6-TCP a 2,3,4,6-TeCP obsahovala v stopových množstvách aj izoméry chlórphenolov a polychlórované polyoxyfe-

noly. Z kontaminovanej zeminy boli vytvorené na podloží z plastickej hmoty a vrstve štrku kompostovacie hromady objemu 50 m^3 (6 m široké, 3 m vysoké a 50 m dlhé). Pomer pôdy ku pridanej organickej hmote (drewná kôra a jaseňové piliny) bol 1,8:1 a zemina bola obohatená aj o živiny (16 % dusíka, 7 % fosforu a 3 % draslíka). Kompost bol raz do týždňa zavlažovaný a raz alebo dvakrát do roka preoraný. Počiatočná koncentrácia zmesi chlórphenolov sa pohybovala v rozpätí 200–300 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Teplota vo vnútri hromady bola 5–15 °C nad teplotou okolia (priemerná teplota okolia v letných mesiacoch bola 32 °C a na jeseň 15 °C). Počas štyroch letných mesiacov prvého roku remediácie koncentrácia chlórphenolov poklesla z 212 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ na 30 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ a počas druhého obdobia sa znížila až na 15 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Z uvedeného vyplýva 80%né odstránenie znečistenia v priebehu štyroch mesiacov, pričom najrýchlejšie prebiehala degradácia počas prvých dvoch mesiacov.

6.3. Pôdne hromady

Technológia pôdnych hromád je diskontinuálny proces, prebiehajúci *ex situ*, čo znamená, že pôda je vyťažená zo znečistenej lokality, premiešavaná zo živinami a následne vzdušená umelým aeračným systémom v záujme dosiahnutia biologickej degradácie prítomných kontaminantov⁸². Pôdne hromady sú veľmi podobné technológii vzdušného kompostovania. Rozdiel spočíva vo vyššom obsahu organickej hmoty a termofilných teplotách využívaných pri metóde vzdušného kompostovania. Použitie pôdnych hromád je rozšírené pre zneškodňovanie zvlášť prchavých kontaminantov, nakoľko umelý vzdušniaci systém umožňuje zachytávanie a prečisťovanie plyných emisií. Kyslík je dodávaný do pôdnych hromád dvomi spôsobmi: 1. vodou ako nosičom kyslíka, 2. rúrkovým vzdušniacim systémom.

V prvom prípade konštantný tok vody obsahuje živiny alebo inokulum. Výtok vody z ošetrovanej oblasti je cyklicky prečerpávaný vodným systémom späť do pôdnej hromady. Uvedená technológia, ktorá využíva vzdušniaci systém vody ako nosiča kyslíka, je rozmerovo limitovaná vzhľadom na rozpusťnosť kyslíka vo vode a transport vody v systéme.

Pri druhom spôsobe vzdušnenia je pôda najskôr zmiešaná so živinami a inokulom a následne vzdušená rúrkovým systémom. Rúrky, zabudované v rôznych hĺbkach, v závislosti od permeability pôdy a výšky pôdnej hromady, sú napojené na vákuovú pumpu alebo kompresor, ktoré do nich vŕhajú vzduch. Odpadové plyné emisie sú v prípade potreby zachytávané a prečisťované. Rúrkový vzdušniaci systém je univerzálnejší, možno ho aplikovať na rozsiahlejšie územie a používa sa pri vyšších koncentráciách kontaminantov.

Bioremediačná technológia pôdnych hromád bola realizovaná pri čistení pôdy kontaminovanej KY-5 (surový produkt PCP) vo Fínsku. Pôda bola inokulovaná kmeňom *Phanerochete chrysosporium*, ktorý rástol niekoľko týždňov na zmesi slamy, pilín, drewných odrezkov a stromovej kôry pri 30 °C. Proces prebiehal bez premiešavania zeminy, vzdušnenie bolo zabezpečené maximálne 5 h počas 24 h a to pri prietoku $43 \text{ m}^3\cdot\text{h}^{-1}$. Koncentrácia znečistenia poklesla v štyroch pokusných políčkach nasledovne: za 18 mesiacov z 203 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ na 28 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; za 18 mesiacov z 173 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ na 12 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; za 9 mesiacov z 84 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ na 10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; za 9 mesiacov z 38 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ na 9 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (cit.⁹⁴).

6.4. Kalové hospodárstvo

Technológia kalového hospodárstva (angl. slurry treatment) je diskontinuálny proces prebiehajúci *ex situ*, ktorý zabezpečuje premiešanie vyťaženej pôdy s vodou v nádobe reaktora alebo v murovanom kalojeme za účelom biologickej degradácie kontaminantov. Cieľom kalového hospodárstva je remediácia pôdy a zníženie objemu tuhého odpadu. Daná technológia zahŕňa vyťaženie pôdy zo znečistenej oblasti, odstránenie väčších mechanických nečistôt, tvorbu kalu premiešavaním ošetrovanej pôdy s vodou, aplikáciu biologických postupov a odvodnenie kalu.

Pri kalovom hospodárstve často dochádza k rýchlejšej degradácii v porovnaní s bezvodnými remediáciami. Nevýhodou sú zvýšené prevádzkové náklady spôsobené prídavnými technologickými krokmi, zvýšené náklady na energiu a tvorba sekundárneho odpadu, ktorý vyžaduje ďalšie spracovanie. Vyžaduje sa aj monitorovanie plyných emisií.

V prípade aplikácie danej technológie v podmienkach *in situ* sa častejšie využíva murovaný kalojem, ktorý však nezabezpečuje rovnomerné premiešavanie a vzdušnenie. Tieto nevýhody sa minimalizujú pri použití kontajnerového reaktora v *ex situ* podmienkach. Komponenty kontajnerového reaktora (zmiešavací tank, fluidizovaná vrstva a vzdúvadlo) umožňujú ľahšiu kontrolu dôležitých biologických parametrov^{95,96}.

Viacere vedecké pracoviská venujú pozornosť bioremediačnej technológii kalového hospodárstva. Mueller a spol.⁹⁷ zrealizovali 30-dňový experiment s pôdou kontaminovanou PCP v 1,5 l bioreaktore. Teplota sa udržiavala na 28,5 °C, množstvo rozpusteného kyslíka na 90 % a pH na hodnote 7. Autori zaznamenali len mierny pokles koncentrácie PCP z 821 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ na 734 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Kvôli akcelerácii biologického rozkladu bola následne študovaná inokulácia mikroorganizmov *Flavobacterium* ATCC 53874 a *Rhodococcus chlorophenolicus* DSM 43826 do kalu⁹⁸.

6.5. Biovzdušnenie a kropenie vzduchom

Bioremediačné technológie biovzdušnenia a kropenia vzduchom využívajú umelé vzdušnenie na zvýšenie koncentrácie kyslíka v pôde pre stimuláciu mikrobiálnej degradácie kontaminantov pôvodnou pôdnou mikroflórou. Keďže vo vzduchu je vyšší obsah kyslíka v porovnaní s množstvom kyslíka rozpusteným vo vode, aj mierne vstrekovanie vzduchu je efektívnejšie než vŕhanie vody ako nosiča kyslíka.

Cieľom biovzdušnenia je zvýšiť biodegradáciu s využitím nižšieho prietoku vzduchu v nesaturovanej pôde, aby nedochádzalo k úniku prchavých zložiek kontaminantu. Kropenie vzduchom sa používa na presun prchavých kontaminantov zo saturovanej zóny do nesaturovanej a na zvýšenie biodegradácie zvýšenou hladinou rozpusteného kyslíka. V porovnaní s metódou biovzdušnenia si kropenie vzduchom vyžaduje zvýšený prietok vzduchu⁸².

6.6. Bioaugmentácia

Bioaugmentácia je pridávanie, teda inokulácia allochtónnych mikroorganizmov (laboratórne selektovaných), alebo autochtónnych mikroorganizmov (pôvodné mikrobiálne kon-

zorcium) pomnožených v laboratórnom reaktore, do znečistenej pôdy v snahe zrýchliť a zvýšiť efektivitu bioremediačného procesu.

Vo väčšine prípadov je koncentrácia autochtónnej mikroflóry na mieste znečistenia dostatočná pre kompletnú biodegradáciu. V prípadoch, kedy bola pôda dlhodobo znečistená, ako je to u väčšiny pôd kontaminovaných PCP, sa pôvodná mikroflóra dokáže adaptovať na prítomnosť daného kontaminantu a možno predpokladať výskyt mikrobiálnych druhov s degradačnou schopnosťou. Mnohé zo znečistených lokalít vyžadujú len optimalizáciu fyzikálnych a chemických parametrov (napr. prídavok živín, organickej hmoty, kyselika, úpravu pH) na stimuláciu a zvýšenie intenzity degradácie pôvodnou mikrobiálnou populáciou⁹⁹. V prípade piesčitých pôd s nízkou koncentráciou prirodzených pôdných mikroorganizmov je pravdepodobné, že degradačná schopnosť bude nedostatočná. Efektívnu bioaugmentáciu je možné očakávať a odporúča sa predovšetkým v týchto prípadoch: 1. ak koncentrácia pôvodnej mikrobiálnej populácie je extrémne nízka, 2. ak čas aklimatizácie pôvodnej mikroflóry po prídavku živín je extrémne dlhý, 3. v prítomnosti extrémne odolného – ťažko-rozložiteľného polutantu, 4. ak pôdny systém neobsahuje dostatočnú koncentráciu pôvodnej mikroflóry, 5. pri kontrolovateľných *ex situ* bioremediačných metódach¹⁰⁰.

Najväčším problémom bioaugmentácie je prežívanie inokulovanej mikroflóry, nakoľko pridávané mikroorganizmy musia súťažiť s prirodzenou populáciou o živiny, priestor a kyslík v neznámom prostredí, čo je pre vnesené mikroorganizmy často stresujúce. Nevyhnutnými podmienkami úspešnej bioaugmentácie je transport inokulovaných mikroorganizmov na kontaminované miesto, ich prežitie, kolonizácia v danom prostredí, prípadne ich pomnoženie, expresia génov kódujúcich degradačné enzýmy a udržanie si degradačnej aktivity. Schopnosť mikroorganizmov metabolizovať danú látku je síce nevyhnutná, nie však postačujúca podmienka pre jej účinné odstránenie z nesterilného prostredia. Selektia mikroorganizmov by mala byť zameraná v prvom rade na schopnosť prežiť v danom prostredí, a až sekundárne na jeho degradačnú schopnosť. Mikroorganizmus by sa mal izolovať pri nízkej koncentrácii substrátu a anorganických živín. Takto získaný kmeň by mohol mať väčšiu šancu na úspech ako mikroorganizmus so síce veľkou degradačnou schopnosťou, no neschopný prispôsobiť sa náročným podmienkam v pôde¹⁰¹.

Prvýkrát použili technológiu bioaugmentácie na dekontamináciu PCP Edgehill a Finn^{102,103}. Pomocou bakteriálneho kmeňa *Arthrobacter* sp. (1.10⁶ kolónií na 1 g pôdy) znížili počas rozkladu PCP z dvoch týždňov na menej ako 1 deň. Neskoršie štúdie ukázali, že *Arthrobacter* sp. degraduje PCP v kvapalných médiách až do koncentrácie 350 mg.l⁻¹, ale pri vyšších koncentráciách dochádza už len k parciálnej degradácii. Inokulácia buniek *Arthrobacter* sp. (4.10⁷ na 1 g pôdy) vyústila za jeden mesiac do kompletnej mineralizácie PCP.

7. Génové inžinierstvo

Génové inžinierstvo, modifikácia genetických vlastností organizmov pomocou rekombinantnej DNA technológie, sa javí ako určitá možnosť pre vývoj výnimočných mikroorganizmov so zvýšenými biodegradačnými schopnosťami. Kľúčové enzýmy zodpovedné za počiatočnú degradáciu PCP (ako

sú LiP, MnP a PCP-4-monooxygenáza) sú intenzívne študované na molekulárnej úrovni. Genetické zmeny týchto enzýmov umožňujú produkovať mikroorganizmy s vyššou hladinou enzýmových aktivít, so širšou substrátovou špecifitou, vyššou toleranciou na environmentálny stres a prítomnosť ťažkých kovov. Monooxygenázový gén, *pcpB* z *Flavobacterium* sp. ATCC 39723, bol klonovaný a exprimovaný do *Escherichia coli*¹⁰⁴. Tento gén kóduje PCP-4-monooxygenázu, ktorá katalyzuje konverziu PCP na 2,3,5,6-TeCHQ (tetrachlórhydrochinón). V dôsledku širokej substrátovej špecificity môže byť tento gén dobrým kandidátom pre geneticky zvýšenú biodegradáciu v kontaminovanom prostredí.

Génové modifikácie sa používajú aj na tvorbu bioluminescentných reportérových génov. Inkorporácia bakteriálneho luciferázového génu (*lux*) spôsobuje svetielkovanie baktérií v prítomnosti bioprístupných kontaminantov¹⁰⁵. Tieto reportérové gény sa používajú na dôkaz indukcie a potenciálu biodegradácie kontaminantov a na určenie prítomnosti a počtu degradujúcich mikroorganizmov v danom systéme.

Vývoj tzv. „super“ mikroorganizmov je síce možný, ale aplikovateľnosť týchto organizmov je ešte stále otázná. Jednak z hľadiska legislatívy, jednak ohľadne verejnej mienky na účinok týchto mikroorganizmov na prirodzenú mikrobiálnu ekológiu. Je známe, že po ich pridaní do pôdy môže dôjsť k potlačeniu pôvodnej pôdnej mikroflóry a to má ďalší dopad na prirodzenú rovnováhu daného pôdneho ekosystému. Je preto potrebné posúdiť úžitok, ktorý tieto vnesené organizmy prinesú. Na druhej strane, odstraňovanie kontaminantov má tiež pozitívny efekt pre daný ekosystém. V súčasnosti je použitie geneticky modifikovaných mikroorganizmov limitované do laboratórií a uzatvorených systémov. Pri pôdných aplikáciách týchto mikroorganizmov bude potrebné v budúcnosti zvažovať riziko ich uvoľnenia do prostredia oproti účelnosti a potrebnosti odstránenia kontaminantov^{105,106}.

8. Limitácie a možnosti bioremediačných technológií

Aj keď bioremediačné technológie predstavujú sľubnú variantu znižovania koncentrácie resp. odstraňovania kontaminantov, predovšetkým v kombinácii s inými technológiami, je potrebné spomenúť aj faktory, ktoré ich efektívnosť a úspešnosť znižujú. Faktory limitujúce remediačné technológie možno stručne zosumarizovať nasledovne: mikrobiálne (rast, mutácia a horizontálny génový transfer, enzýmová indukcia, vnesenie vhodnej mikrobiálnej populácie), environmentálne (vyčerpanie preferenčných substrátov, nedostatok živín, inhibičné environmentálne podmienky), substrát (príliš nízka koncentrácia, chemická štruktúra, toxicita kontaminantov a rozpustnosť kontaminantov), biologické aeróbne vs. anaeróbne procesy (oxidačný/redukčný potenciál, dostupnosť elektrónových akceptorov, prítomnosť mikrobiálnej populácie), rastový substrát vs. kometabolizmus (typ kontaminantu, koncentrácia, prítomnosť alternatívneho zdroja uhlíka mikrobiálne interakcie), fyzikálno-chemická bioprístupnosť polutantov (sorpčná rovnováha, ireverzibilná sorpcia, inkorporácia do humínovej hmoty) a limitácie transferu hmoty (difúzia a rozpustnosť kyselika, difúzia živín, rozpustnosť/miešateľnosť vo vode/s vodou). Detailnejšie sa limitáciami bioremediačnými zaoberá viacero prác^{107,108}.

9. Záver

Pri remediácii hydrofóbných kontaminantov z pôd, spodných vôd a bioodpadov je možné uvažovať aj s niektorými ďalšími novelizovanými prístupmi v environmentálnom remediálnom výskume, a to s využitím i iných organizmov ako baktérií. Jedná sa o fytoremediáciu (použitie rastlín), rhizoremediáciu (využitie koreňových systémov rastlín s bakteriálnou mikrofórou) a použitie vyšších húb (mycélií). Tieto systémy umožňujú akumuláciu kontaminantov v tele rastliny alebo ich zabudovanie do rastlinných štruktúr vo forme nefytotoxických metabolitov (čo však nemusí vždy znamenať netoxické pre človeka), prípadne do mycélia húb, ale aj transformáciu organických zlúčenín pomocou koreňového systému (angl. hairy roots) alebo lignín- a mangánperoxidázového enzýmového systému mycélia vyšších húb^{109–111}. Fytoremediácia sa najlepšie uplatňuje v miestach s povrchovým znečistením a bolo zistené, že je účinná predovšetkým pre hydrofóbne polutanty ako sú benzén, toluén, etylbenzén, xylén, chlórované xenobiotiká typu chlórovaných bifenylov i fenolov, nitrozlučieniny alebo nitrotoluénové škodliviny. Pri fytodekontaminácii, keď rastliny akumulujú kontaminanty v tkanivách, sú tieto po zbere uložené na skládkach, spracované chemicky a termálne. Fytostabilizácia je postup, ktorý je možné využiť pri zaistení a príprave kontaminovanej oblasti pred dekontamináciou alebo pri regulácii prietoku kontaminovanej podzemnej vody pôdnym sedimentom a pri jej zadržovaní v problémovej oblasti. Pozornosť sa teda obracia pri dekontamináčnych technológiách (predovšetkým pri *in situ* postupoch) viac na prirodzené procesy, ktoré rešpektujú prírodnú rovnováhu a najmenej ju nerušajú.

LITERATÚRA

- Cirelli D. P., v knihe: *Pentachlorophenol: Chemistry, Pharmacology and Environmental Toxicology* (Rao K. R., ed.), str. 13. Plenum Press, New York 1978.
- Kobayashi K., v knihe: *Pentachlorophenol: Chemistry, Pharmacology and Environmental Toxicology* (Rao K. R., ed.), str. 89. Plenum Press, New York 1978.
- Nilsson C. A., Norstrom A., Andersson K., Rappe C., v knihe: *Pentachlorophenol: Chemistry, Pharmacology and Environmental Toxicology* (Rao K. R., ed.), str. 313. Plenum Press, New York 1978.
- Jokela J. K., Laine M., Salkinoja-Salonen M.: *Environ. Sci. Technol.* 27, 5478 (1993).
- Detrick R. S.: *For. Prod. J.* 27, 13 (1977).
- Ahling B., Lindskog A., v knihe: *Chlorinated Dioxins and Related Compounds* (Hutzinger O., Frei R. W., Merian E., Pocchiari F., ed.), str. 215. Pergamon Press, Oxford 1982.
- Paasivirta J., Heinola K., Humpi T., Karjalainen K., Knuutinen J., Mäntykoski K., Pauku R., Piilola T., Surma-Aho K., Tarhanen J., Welling L., Vihonen H., Särkkä J.: *Chemosphere* 14, 469 (1985).
- Salkinija-Salonen M. S., Valo R., Apajalahti J., Hakulinen R., Silakoski L., Jaakkola T.: *3rd International Symposium on Microbial Ecology: Current Perspectives in Microbial Ecology*, American Society for Microbiology, Washington D.C. 1983. Proceedings (Klug M. J., Reddy C. A., ed.), str. 668.
- Berger R. S.: *Science* 177, 704 (1972).
- McDowell P. G., Waladde S. M.: *J. Chem. Ecol.* 12, 69 (1986).
- Muir J., Eduljee G.: *Sci. Total Environ.* 236, 41 (1999).
- Zheng M., Zheng B., Bao Z., Yang H., Xu X.: *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 64, 16 (2000).
- Autenrieth R. L., Bonner J. S.: *J. Hazard. Mater.* 28, 29 (1991).
- Goldman L. R., Harnly M., Flattery J., Patterson D. G. Jr., Needham L. L.: *Environ. Health Perspect.* 108, 13 (2000).
- U.S. EPA, *Report of the Ad Hoc Study Group on Pentachlorophenol Contaminants*, Environmental Health Advisory Committee, Science Advisory Board, Washington D.C. 1978.
- Crosby D. G.: *Pure Appl. Chem.* 53, 1051 (1981).
- Verschueren K., v knihe: *Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals*. Van Nostrand Reinhold, New York 1983.
- Simonich S. L., Hites R. A.: *Environ. Sci. Technol.* 29, 2905 (1995).
- Vestník Ministerstva Pôdohospodárstva Slovenskej republiky, *Rozhodnutie o najvyšších prípustných hodnotách škodlivých látok v pôde a o určení organizácii oprávnených zisťovať skutočné hodnoty týchto látok*, 531/1994-540, str. 3, 1994.
- McAllister K. A., Lee Hung, Trevors J. T.: *Biodegradation* 7, 1 (1996).
- Yu J., Ward O. P.: *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 1996, 181.
- Häggblom M., Valo R. J., v knihe: *Microbial Transformation and Degradation of Toxic Organic Chemicals* (Young L., Cerniglia C., ed.), str. 389. Wiley-Liss, Inc., New York 1995.
- van Schie P. M., Young L. Y.: *Bioremed. J.* 4, 1 (2000).
- Neilson A. H.: *J. Appl. Bacteriol.* 69, 445 (1990).
- Katayama-Hirama K., Tobita S., Hirayama K.: *J. Gen. Appl. Microbiol.* 38, 497 (1992).
- Londry K. L., Fedorak P. M.: *Can. J. Microbiol.* 38, 1 (1992).
- Ambujon S., Manillan V. B.: *Biotechnol. Lett.* 17, 443 (1995).
- Kramer C. M., Kory M. M.: *Can. J. Microbiol.* 38, 34 (1992).
- Knoll G., Winter J.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 30, 318 (1989).
- Mohn W. W., Kennedy K. J.: *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 2131 (1992).
- Mohn W. W., Kennedy K. J.: *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 1367 (1992).
- Wittmann C., Zeng A. P., Deckwer W. D.: *J. Ind. Microbiol. Technol.* 21, 315 (1998).
- Männistö M. K., Tirola M. S., Puhakka J. A.: *4th International Symposium on Environmental Biotechnology, Noordwijkerhout 2000*. Proceedings (Hartmans S., Lens P., ed.), str. 174.
- Katayama-Hirama K., Tobita S., Hirayama K.: *J. Gen. Appl. Microbiol.* 37, 147 (1991).
- Katayama-Hirama K., Tobita S., Hirayama K.: *J. Gen. Appl. Microbiol.* 37, 379 (1991).
- Anselmo A. M., Cabral J. M. S., Novais J. M.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 31, 200 (1989).

37. Gajendiran N., Mahadevan M.: *Indian J. Exp. Biol.* 28, 1136 (1990).
38. Čejková A., Masák J., Jirků V., Strnad R., Siglová M., Fialová A.: *4th International Symposium on Environmental Biotechnology, Noordwijkerhout 2000*. Proceedings (Hartmans S., Lens P., ed.), str. 504.
39. Aiken B. S., Logan B. E.: *Biodegradation* 7, 175 (1996).
40. Tuomela M., Lyytikäinen M., Oivanen P., Hataka A.: *Soil Biol. Biochem.* 31, 65 (1999).
41. Ohtsubo Y., Miyauchi K., Kanda K., Hatta T., Kiyohara H., Senda T., Nagata Y., Mitsui Y., Takagi M.: *FEBS Lett.* 459, 395 (1999).
42. Xun L., Bohuslavsek J., Cai M.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 266, 322 (1999).
43. Xu L., Resing K., Lawson S. L., Babbitt P. C., Copley S. D.: *Biochemistry* 38, 7659 (1999).
44. Saboo V. M., Gealt M. A.: *Can. J. Microbiol.* 44, 667 (1998).
45. van de Pas B. A., Smidt H., Hagen W. R., van der Ost J., Schraa G., Stams A. J., de Vos W. M.: *J. Biol. Chem.* 274, 20287 (1999).
46. Lo K. V., Zhu C. M., Cheuk W.: *Environ. Technol.* 19, 91 (1998).
47. Lücking F., Köser H., Jank M., Ritter A.: *Water Res.* 32, 2607 (1998).
48. Derco J., Gulyásová A., Horňák M.: *Chem. Pap.* 56, 41 (2002).
49. Schmidt L., Delfino J. J., Preston J. F., St. Lauren J. III.: *Chemosphere* 38, 2897 (1999).
50. Ide A., Niki Y., Sakamoto F., Watanabe I., Watanabe H.: *Agric. Biol. Chem.* 36, 1937 (1972).
51. Kuwatsuka S., Igarashi M.: *Soil Sci. Plant Nutr.* 21, 405 (1975).
52. Murthy N. B. K., Kaufmann D. D., Fries G. F.: *J. Environ. Sci. Health* 14, 1 (1979).
53. Boyd S. A., Shelton D. R.: *Appl. Environ. Microbiol.* 47, 272 (1984).
54. Hale D. D., Rogers J. E., Wiegel J.: *Environ. Toxicol. Chem.* 10, 1255 (1991).
55. Hrudey S. E., Knetig E., Fedorak P. M., Daignault S. A.: *Water Pollut. Res. J. Can.* 22, 427 (1987).
56. Kohring G.W., Zhang X., Wiegel J.: *Appl. Environ. Microbiol.* 55, 2735 (1989).
57. Suflita J. M., Miller G. D.: *Environ. Toxicol. Chem.* 4, 751 (1985).
58. Zhang X., Wiegel J.: *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 1119 (1990).
59. Abrahamsson K., Klick S.: *Mar. Pollut. Bull.* 22, 227 (1991).
60. Mikesell M. D., Boyd S.: *J. Environ. Q.* 14, 337 (1985).
61. Mikesell M. D., Boyd S.: *Environ. Sci. Technol.* 22, 1411 (1988).
62. Nicholson D. K., Woods S. L., Istok J.D., Peek D. C.: *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 2280 (1992).
63. Armenante P. M., Kafkewitz D., Lewandowski G., Kung C. M.: *Environ. Prog.* 11, 113 (1992).
64. Larsen S., Hendriksen H. V., Ahring B. K.: *Appl. Environ. Microbiol.* 57, 2085 (1991).
65. Madsen T., Aamand J.: *Appl. Environ. Microbiol.* 57, 2453 (1991).
66. Augustijn-Beckers P. E. M., Hornsky A. G., Wau-Choje R. D., v knihe: *Review of Environmental Contamination and Toxicology* (Ware G. W., ed.), str. 144. Springer-Verlag, New York 1994.
67. Lagas P.: *Chemosphere* 17, 205 (1988).
68. Rapaport R. A., Eisenreich S. J.: *Environ. Sci. Technol.* 18, 163 (1984).
69. Choi J., Aomine S.: *Soil Sci. Plant Nutr.* 20, 135 (1974).
70. Jacobsen B. N., Arain E., Reiders M.: *Water Res.* 39, 13 (1996).
71. Choi J., Aomine S.: *Soil Sci. Plant Nutr.* 18, 255 (1972).
72. Gestel van C. A. M., Adema D. M. M., Dirven-van Breemen E. M.: *Water, Air, Soil Pollut.* 88, 119 (1997).
73. Galil M. I., Novak J. T.: *Water Res.* 29, 1553 (1995).
74. Dec J., Bollag J. M., v knihe: *Bioremediation through Rhizosphere Technology* (Anderson T. A., Coats J. R., ed.), ACS Symposium Series 563, str. 102. American Chemical Society, Washington 1994.
75. Dec J., Bolag J. M.: *Environ. Sci. Technol.* 28, 484 (1994).
76. Dec J., Bollag J. M.: *Soil Sci. Soc. Am. J.* 52, 1366 (1988).
77. Bennet G. F., Olmstead K. P.: *Chem. Br.* 2, 133 (1992).
78. Mueller J., Pritchard H., Tischuk M., Brouman M., Swallow P., Tabe M., Smith J., v knihe: *Novel Approaches for Bioremediation of Organic Pollution*, str. 1. Eilat 1998.
79. Laine M. M., Jorgensen, K. S.: *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 1507 (1996).
80. Laine M. M., Jorgensen, K. S.: *Environ. Sci. Technol.* 31, 371 (1997).
81. Sims J. L., Sims R. C., Matthews J. E.: *Bioremediation of Contaminated Surface Soils, EPA/600/9-89/073*. Ada 1989.
82. Anderson W. C.: *Innovative Site Remediation Technology, Vol. 1, Bioremediation*. American Academy of Environmental Engineers, Annapolis 1995.
83. Otte M. P., Gagnon J., Comeau Y., Matte N., Greer Ch.W., Samson R.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 40, 926 (1994).
84. Barbeau C., Deschenes L., Karamanev D., Comeau Y., Samson R.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 48, 745 (1997).
85. McGrath R., Singleton I.: *Soil Biol. Biochem.* 32, 1311 (2000).
86. Barančíková G.: *Novel Approaches for Bioremediation of Organic Pollution, Izrael 1998*. Zborník abstraktov, str. 4P.
87. Zou S., Anders K. M., Ferguson J. F.: *Bioremed. J.* 4, 19 (2000).
88. Jahan K., Maier W. J.: *47th Purdue Industrial Waste Conference Proceeding, Chelsea, Mass 1992*. Zborník abstraktov, str. 177.
89. Pope D. F., Matthews J. E., v správě: *Bioremediation Using the Land Treatment Concept, EPA/600/R-93/164*, str. 1. Ada 1993.
90. Cookson Jr., J. T., v knihe: *Bioremediation Engineering Design and Application*, str. 18. McGraw-Hill, New York 1995.
91. Leahy M., Brown R.: *Chem. Eng.* 101, 108 (1994).
92. Hunling S. G., Pope D. F., Matthews J. E., Sims J. L., Sims R. C., Sorenson D. L., v knihe: *Wood Bioremediation of Recalcitrant Organics* (Hinchee R. E., Anderson D. B., Hoeppe R. E., ed.), str. 101. Battelle Press, Columbus 1995.

93. Valo R., Salkinoja-Salonen M.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 25, 68 (1986).
94. Holroyd M. L., Caunt P., v knihe: *Bioaugmentation for Site Remediation* (Hinchee R. E., Fredrickson J., Alleman B. C., ed.), str. 181. Battelle Press, Columbus 1995.
95. Glaser J. A., Tzeng J. J.-W., McCauley P. T., v knihe: *Biological Processes for Hazardous Waste Treatment* (Hinchee R. E., Skeen R. S., Sayles G. D., ed.), str. 145. Battelle Press, Columbus 1995.
96. U.S. EPA, *Slurry Biodegradation, EPA/540/2-90/016*, str. 1. Cincinnati 1990.
97. Mueller J. G., Lantz S. E., Blattmann B. O., Chapman P. J.: *Environ. Sci. Technol.* 25, 1055 (1991).
98. McBain A., Cui F., Herbert L., Ruddick J. N. R.: *Biodegradation* 6, 46 (1995).
99. Baker K. H., Herson D. S.: *Bioremediation*. McGraw-Hill, New York (1994).
100. Alexander M., v knihe: *Biodegradation and Bioremediation*, str. 226. Academic Press, San Diego 1994.
101. Pritchard P.H.: *Curr. Opin. Biotechnol.* 3, 232 (1992).
102. Edgehill R. U., Finn R. K.: *Appl. Environ. Microbiol.* 45, 1122 (1983).
103. Edgehill R. U., v knihe: *Bioaugmentation for Site Remediation* (Hinchee R. E., Fredrickson J., Alleman B. C., ed.), str. 85. Battelle Press, Columbus 1995.
104. Orser C. S., Lange C. C., Xun L., Zahrt T. C., Schneider B. J.: *J. Bacteriol.* 175, 5487 (1993).
105. Ensley B. D., DeFlaun M. F., v knihe: *The Microbial Ecology and Physiology of Aryl Dehalogenation Reactions and Implications for Bioremediation* (Young L. Y., Cerniglia C. E., ed.), str. 603. Wiley-Liss, New York 1995.
106. Menn F. M., Easter J. P., Saylor G. S., v knihe: *Biotechnology, Vol. 11b Environmental Processes* (Klein J., ed.), str. 441. Wiley-Verlag, Weinheim 2000.
107. Boopathy R.: *Bioresour. Technol.* 74, 63 (2000).
108. Klein J., v knihe: *Biotechnology, Vol. 11b Environmental Processes* (Klein J., ed.), str. 465. Wiley-Verlag, Weinheim 2000.
109. Pletsch M., de Araujo S., Charlwood B. V.: *Biotechnol. Adv.* 17, 679 (1999).
110. Schnoor J. L., v knihe: *Biotechnology, Vol. 11b Environmental Processes* (Klein J., ed.), str. 371. Wiley-Verlag, Weinheim 2000.
111. Wenzel W. W., Adriano D. C., Salt D., Smith R., v knihe: *Bioremediation of Contaminated Soil* (Kral D. M., ed.), str. 457. American Society of Agronomy, Wisconsin 1999.

K. Dercová^a, Z. Kyseľová^a, G. Barančíková^b, Z. Sejáková^a, and A. Maľová^a (^a*Department of Biochemical Technology, Slovak University of Technology, Bratislava*, ^b*Research Institute for Soil Science and Conservation, Prešov, Slovak Republic*): **Biodegradation and Bioremediation of Pentachlorophenol**

Pentachlorophenol (PCP) has been widely used in a number of industrial applications. As a consequence and due to its stability, it has become a widespread contaminant in soil, sediments and landfills. Because classic remediation technologies (such as incineration) are generally non-ecological and uneconomical, alternative methods involving biodegradation by microbial populations have been developed. The two known pathways of biodegradation (oxidative and reductive) as well as factors affecting PCP degradation by microbial strains are reviewed here. The proposed bioremediation strategies and those recently developed are outlined.

ELEKTROCHEMICKÉ BIOSENZORY V ANALÝZE ZEMĚDĚLSKÝCH PRODUKTŮ A VZORKŮ ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

RENÉ KIZEK^a, JAN VACEK^{a,b},
LIBUŠE TRNKOVÁ^c, BOŘIVOJ KLEJDUS^a
a VLASTIMIL KUBÁN^a

^aÚstav chemie a biochemie a ^bÚstav botaniky a fyziologie rostlin, Agronomická fakulta, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Zemědělská 1, 613 00 Brno, ^cKatedra teoretické a fyzikální chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kotlářská 2, 611 37 Brno
e-mail: kuban@mendelu.cz

Došlo 20.3.03, přepracováno 29.5.03, přijato 18.6.03.

Klíčová slova: elektrochemické biosenzory, DNA-biosenzory, enzymové a uhlíkové elektrody, avidin-biotinová technologie, pesticidy, polutanty, zemědělská kontrola, životní prostředí

Obsah

1. Úvod
2. Biosenzory
 - 2.1. Dělení a principy
 - 2.2. Elektrochemické biosenzory
 - 2.3. Biosenzory na bázi imobilizovaných činidel
3. Závěr

1. Úvod

Analytická elektrochemie je obsáhlou a rychle se vyvíjející vědní disciplínou, která nachází své uplatnění v oblasti sledování znečištění životního prostředí. Zemědělství je prostředek k získávání potravy a analýzy škodlivých látek na vstupu a následně v jeho produktech jsou prvořadým úkolem pro udržení kvality lidského zdraví¹. Naproti tomu je právě zemědělská činnost příčinou kontaminace biosféry a metody analýzy znečištění jednotlivých složek životního prostředí jsou prostředkem, jak sledovat a následně regulovat koncentrace škodlivin. Jednou z možných alternativ kvalitativní i kvantitativní chemické analýzy v zemědělské praxi a v oblasti kontroly kvality životního prostředí je použití biosenzorů.

2. Biosenzory

Technologie biosenzorů dnes nachází uplatnění v klinické diagnostice, genomice a proteomice, ochraně životního prostředí, průmyslové výrobě a obecně studiu biologických procesů v případech, kdy klasická laboratorní analytická technika selhává z důvodů malé citlivosti, vysokých provozních nákla-

dů, vysoké spotřeby vzorků, nepřípustných zásahů do dynamické rovnováhy studovaných systémů či jiných důvodů. V tomto krátkém přehledu je pojednáno o využití potenciometrických a amperometrických biosenzorů pro chemické analýzy v zemědělské praxi a při kontrole kvality životního prostředí. Cílem textu není podat vyčerpávající přehled, ale naopak seznámit čtenáře s nejnovějšími trendy a přístupy, které byly nedávno publikovány.

Diskutovány jsou možnosti využití elektrochemických biosenzorů pro stanovení toxických látek jako jsou těžké kovy, pesticidní přípravky a některé organické polutanty, např. polychlorované bifenylly, akridinové deriváty a látky fenolické povahy. S ohledem na využití moderních technologií pro stanovení specifických sekvencí RNA nebo DNA je část textu věnována nejnovějším elektrochemickým trendům DNA-hybridizace a enzymatické modifikace (avidin-biotinová technologie) pevných uhlíkových elektrod. Takovéto možnosti stanovení specifické nukleové kyseliny zemědělských škůdců nebo patogenních organismů, popřípadě stanovení jednotlivých proteinů v proteomové výbavě organismů, představují jednu z hlavních předností pevných elektrod modifikovaných nukleovými kyselinami nebo proteiny. V souvislosti s DNA imobilizovanou na povrchu indikační elektrody je také uvedena možnost využití elektrochemických biosenzorů pro stanovení poškozené DNA, což by mohlo mít značný význam pro studium genotoxických vlivů škodlivin na organismy za použití kompaktních a přenosných diagnostických zařízení. Všechny tyto poznatky jsou důležité pro konstrukci selektivních a citlivých elektrochemických zařízení a jejich aplikaci v zemědělské chemii nebo ochraně životního prostředí a lidského zdraví.

2.1. Dělení a principy

Biosenzory jsou podskupinou chemických senzorů, ve kterých je analytické zařízení složeno z biologického prvku (enzym, protilátka, oligonukleotid, biomembrána, buněčná organela, tkáň, mikroorganismus) spojeného s fyzikálně-chemickým převodníkem. Tento převodník může být optický, hmotnostní, teplotní a nebo elektrochemický^{1,2}. Výsledkem této kombinace biologicky aktivní látky a převodníku, funkčně založeného na měření fyzikálně-chemických veličin, je velmi citlivý analytický nástroj, který může být aplikován v zemědělské a obecně chemické analýze složek životního prostředí pro svou finanční nenáročnost, rychlost a jednoduchost samotného měření. Elektrochemické biosenzory lze rozdělit na konduktometrické, impedimetrické, potenciometrické a amperometrické¹. O obecných principech a využití biosenzorů pojednává např. přehled³.

2.2. Elektrochemické biosenzory

Konduktometrické převodníky vycházejí z měření změny konduktivity G analytu, ve kterém mikroorganismy metabolizují elektricky inaktivní substráty, jejichž koncentraci zjišťujeme nepřímým měřením elektricky aktivních metabolitů. Kon-

centrace těchto elektroaktivních metabolitů je ekvivalentní koncentraci stanovovaných elektroinaktivních substrátů a odpovídá změně konduktivity¹.

Další skupinou jsou impedimetrické biosenzory, které jsou založeny na sledování vektorové veličiny tzv. impedance Z po vložení střídavého napětí na elektrody^{4,5}. Tyto změny jsou opět nejčastěji způsobeny nepřímo metabolizací mikroorganismů vedoucí k nárůstu konduktance/kapacitance a naopak poklesu převodníkem registrované impedance¹.

V případě konduktometrie a impedimetrie se neuplatňují faradaické procesy a koncentrační polarizace, jako je tomu v případě potenciometrických a amperometrických převodníků. Ty fungují na základě měření potenciálu U nebo proudu I na elektrodové membráně či samotném povrchu pracovní (indikační) elektrody zapojené proti srovnávací (referenční) elektrodě.

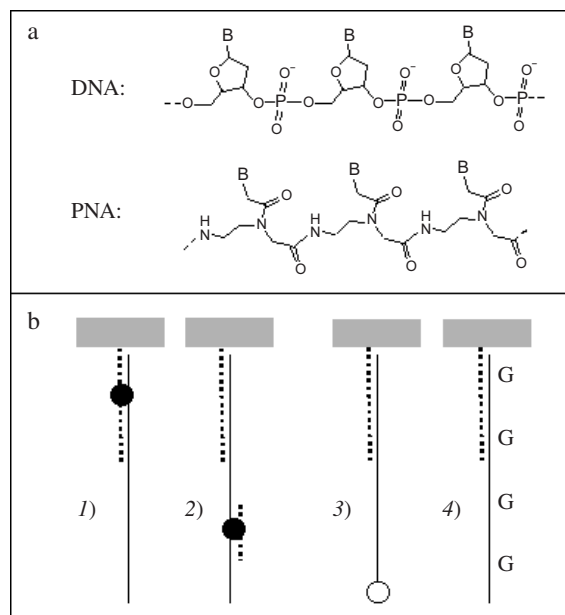
Pro analýzy znečištěného životního prostředí těžkými kovy je elektrochemická analýza jednou z nejčastěji používaných metod^{6,7}. Nedávno vyvinutý biosenzor založený na chelataci iontů kovů ethylendiamintetraoctovou kyselinou (EDTA) a diethylentriaminpentaoctovou kyselinou (DTPA) a následnou vazbou komplexů monoklonálními protilátkami umožňuje stanovit nanomolární koncentrace iontů kovů. Takto navržený biosenzor byl autory použit pro analýzu kadmia v přírodní vodě⁷.

Své uplatnění našly elektrochemické biosenzory také v zemědělské chemii jako analyzátoři pesticidních přípravků^{8,9}. Pro stanovení organofosfátového pesticidu (2,2-dichlorvinyl)-dimethylfosfátu (DDVP) byl použit průtokový amperometrický detektor využívající inhibice acetylcholinesterasy (AChE), která je imobilizována na membránové elektrodě umístěné v průtokové cele¹⁰. Princip stanovení spočívá v degradaci acetylthiocholin-chloridu (ATCh), jakožto substrátu enzymu AChE, účinkem toxického organofosfátu, přičemž produktem degradace je thiocholin a octová kyselina. Takto vzniklý thiocholin reaguje s hexakvanoželezitými ionty v analyzovaném roztoku a redukce $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ na $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ je elektrochemicky sledována¹⁰.

Kromě inhibice systému AChE se dá pro stanovení herbicidních přípravků a polutantů použít i inhibice laktátdehydrogenasy¹¹. V poslední době nacházejí uplatnění i mikroelektrodové systémy. V roce 2001 tým španělských elektrochemiků použil pro stanovení linuronu (3-(3,4-dichlorfenyl)-1-methoxy-1-methylmočovina) v půdě mikroelektrodu vyrobenou ze skelných vláken s mezí detekce $80 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ (cit.¹²). Zajímavou technologií je také použití multielektrodových biosenzorů pro simultánní stanovení insekticidních preparátů, jako např. uvádí Bachmann¹³.

2.3. Biosenzory na bázi imobilizovaných činidel

V posledních letech je často používána technologie, která je založena na imobilizaci nukleových kyselin (obr. 1a) nebo proteinů na povrchu pracovní elektrody^{14,15}. Takto imobilizovaná vrstva vysoce citlivého biopolymeru je schopná kovalentní či nekovalentní interakce se studovanou látkou (např. pesticidy, organické mutageny atd.). Tyto senzory byly navrženy řadou autorů a vychází z různých principů samotného stanovení^{14,16–18}. V případě DNA-hybridizačních biosenzorů je na povrchu pracovní elektrody vytvořena vrstva jednořetěz-



Obr. 1. a) Chemická struktura negativně nabitě molekuly DNA a neutrálně nabitě peptidové nukleové kyseliny (PNA); B: purinová nebo pyrimidinová báze. b) Schéma různých postupů DNA-hybridizace na povrchu pracovní elektrody; k ukotvené DNA-sondě (oligonukleotid) na elektrodovém povrchu je na základě komplementarity bází (A–T, C–G) hybridizována další molekula nukleové kyseliny za vzniku duplexu. Takto vzniklý duplex může být elektrochemicky detegován různými způsoby: V případě 1) je vytvoření duplexu registrováno sledováním rozdílu mezi elektrochemickou odezvou samotné sondy (ssDNA) před hybridizací a duplexu po hybridizaci. V tomto případě je možné využít skutečnosti, že ssDNA poskytuje výrazně vyšší katodickou odezvu adeninu a cytosinu než duplexní řetězec. Nebo může být pro hybridizační proceduru použita redoxní značka vážící se pouze na vytvořený duplex. 2) Dále může být použita značená sonda nesoucí elektroaktivní značku (angl. reporter probe), která se váže na molekulu hybridizující se k DNA-sondě ukotvené na povrchu elektrody. 3) Hybridizaci lze stanovit pomocí elektroaktivní značky (např. enzymu), která je navázána na konec molekuly tvořící hybridizační duplex s DNA-hybridizační sondou a nebo 4) stanovením guaninových zbytků v její molekule (více v cit.^{14,26}); ■ elektroda, DNA-sonda, O enzym, ● redoxní značka, — komplementární DNA, G guanin

cových molekul DNA (ssDNA) se známou sekvencí. Většinou jde o syntetický oligonukleotid (obvykle se stupněm polymerace 15–40), který nazýváme sonda (angl.: probe), a který má komplementární sekvenci ke stanovovaným molekulám DNA nebo RNA. Takto modifikovaný povrch převodníku poskytuje jinou proudovou či potenciálovou odezvu než v případě, že je k ssDNA molekulám podle Watson-Crickova schématu navázán (hybridizován) komplementární řetězec stanovované molekuly ssDNA (angl.: target DNA) za vzniku duplexu¹⁴.

Základem samotného analytického postupu je izolace DNA nebo RNA z biologického vzorku. Po purifikaci jsou izolované molekuly naneseny na povrch pracovní elektrody, který je modifikovaný DNA-sondou. Důkaz hybridizace může být proveden způsoby, ve kterých se často využívá různých elektroaktivních značek, specificky se vážících na dvouřetězcovou DNA (dsDNA) nebo ssDNA (viz obr. 1b). Možné je např.

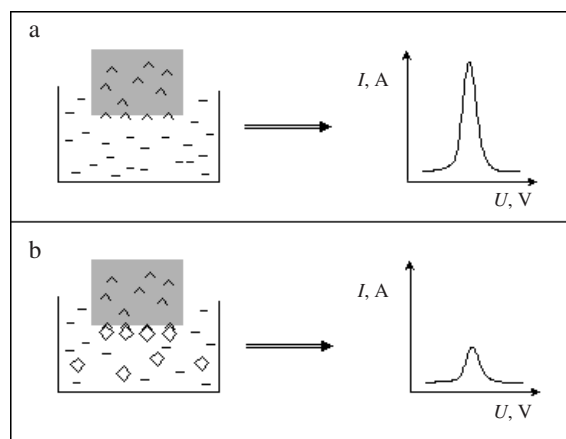
řešení pomocí kovalentně se vázající osmiové značky na molekulu thyminu¹⁹.

Wang a spol. vyvinuli chronopotenciometrický DNA-hybridizační biosenzor pro stanovení DNA izolované z oocyst patogenní bakterie *Cryptosporidium parvum* v pitné vodě za použití uhlíkové pastové elektrody (CPE) (cit.¹⁴). Voltametrické biosenzory lze také použít pro stanovení populace mikroorganismů v potravinářských a environmentálních vzorcích²⁰. Jako sonda může být použit nejen syntetický nukleotid, který má negativně nabitou cukr-fosfátovou kostru, ale i molekula, jejíž kostra nesoucí purinové a pyrimidinové báze je nahrazena neutrálním peptidovým řetězcem tvořeným jednotkami *N*-(2-aminoethyl)glycinu²¹ (peptidová nukleová kyselina (PNA), viz obr. 1a). Molekuly PNA imobilizované na elektrodu převodníku mohou tvořit PNA-DNA duplex, podobně jako je tomu v případě DNA-DNA hybridizace, se stanovenou nukleovou kyselinou izolovanou z mikrobiálního nebo jiného škůdce²².

Analýzy toxických látek v životním prostředí mohou být také prováděny pomocí elektrody modifikované vrstvou dsDNA¹⁴. Pokud je takto modifikovaná vrstva vystavena vlivu toxické látky, dojde k její vazbě na imobilizovanou vrstvu dsDNA, což se projeví změnou oxidačního proudu guaninu. V této souvislosti byl vyvinut potenciometrický DNA-biosenzor pro stanovení aromatické sloučeniny antracen-2-aminu (2-anthramin) v podzemních vodách. Stanovení vychází z toho, že se zvyšující se koncentrací 2-anthraminu se snižuje anodický pík guaninu, což je způsobeno vazbou 2-anthraminu na molekuly dsDNA, čímž jsou zablokována oxidační místa v molekule guaninu¹⁴. Podobné experimenty byly provedeny s dimethylhydrazinem v říční vodě²³ a s deriváty 1,3,5-triazinu²⁴. DNA-biosenzory nacházejí své uplatnění i při stanovení různých teratogenů a mutagenů, např. při studiu benzo[*a*]pyren-DNA aduktů²⁵.

Jednou z dalších možností je využití biosenzorů pro studium poškození DNA, přičemž DNA je opět prekoncentrována na povrchu indikační elektrody pomocí ultrafialového a γ -záření^{16,26}. Signálem umožňujícím sledovat poškození molekul dsDNA je opět guaninový oxidační pík¹⁴. Takto navržené biosenzory pro studium poškození DNA pracují na principu fotokonverze guaninových zbytků na 2,6-diamino-4-hydroxy-5-formamidopyrimidin.

Jak se v poslední době ukazuje, je použití CPE vhodným nástrojem nejen pro DNA-hybridizační sondy a biosenzory indikující poškození DNA, ale i pro modifikaci uhlíkové pasty enzymem, který může specificky vázat protein přítomný ve vzorku. Avidin je toxický protein, který produkuje půdní bakterie *Streptomyces avidinii*. Toxicita avidinu spočívá ve vazbě biotinu. Tohoto principu lze využít při navrhování technologie biologické ochrany rostlin, které jsou geneticky manipulovány k produkci avidinu²⁷. Avidin-biotinové technologie bylo využito pro konstrukci amperometrického biosenzoru vyrobeného z uhlíkové pasty, do které byl imobilizován biotin. Z transgenních rostlin kukuřice (*Zea mays*) produkujících avidin jako ochranu proti škůdcům, byl získán buněčný obsah ze semen. Díky navrženému biosenzoru bylo možné rozpoznávat avidin-transgenní rostlinu od rostliny genetiky nemodifikované (avidin-biotinové technologie viz obr. 2) (cit.²⁸). Podobné technologie představují možnost jednoduchého stanovení daného proteinu či jiné látky v geneticky modifikovaných zemědělských plodinách. Naopak, DNA-hy-



Obr. 2. Schéma ilustrující využití avidin-biotinové vazby v technologii elektrochemických biosenzorů. a) Biotinem modifikovaná uhlíková pastová elektroda poskytuje anodický pík aminokyseliny tyrosinu a tryptofanu, které jsou součástí molekuly biotinu. b) Pokud je v analyzovaném vzorku přítomný avidin, vytvoří se na povrchu elektrody komplex s biotinem a zmenší se oxidační pík v důsledku vazby biotinu s avidinem. Pokles píku je způsoben zablokováním oxidovatelných skupin v molekule biotinu molekulou avidinu. V případě biotin-avidinové technologie může být použit i biotinem značený oligonukleotid jako indikátor DNA-hybridizace. Biotin-avidinová technologie má široké spektrum použití u biosenzorů používaných pro stanovení proteinů a nukleových kyselin (viz cit.²⁸); ■ elektroda, - - - elektrolyt, ◇ komplex avidinu a biotinu, ◇ avidin, ^ biotin

bridizační biosenzory jsou efektivním nástrojem pro určení transgenní sekvence nebo jiné aminokyselinové sekvence, např. hygienicky nežádoucích organismů či zemědělských škůdců.

3. Závěr

Výše uvedené příklady prezentují biosenzory jako efektivní analytický nástroj v zemědělské a environmentální chemii. Tyto biosenzory představují budoucnost v rozvoji terénních analýz a plně automatizovaných zařízení pro monitorování nejrůznějších polutantů. Nejeftivnější a ekonomicky nejvýhodnější technologií se jeví použití převodníku složeného z galvanostatu či potenciostatu zapojeného s pevnou elektrodou, jako jsou CPE a nebo elektrody vyrobené z uhlíkového vlákna či pyrolytického grafitu²⁹.

Na druhou stranu jako biologický prvek biosenzoru je výhodné používat enzymy a některé další proteiny se schopností specifické vazby, nebo v DNA-hybridizační technologii používané syntetické oligonukleotidy a PNA. Především elektrochemické biosenzory pro poškození DNA se mohou stát vhodným nástrojem pro studium genotoxických vlivů zemědělských preparátů nebo jiných průmyslově využívaných látek³⁰.

Využití biosenzorů je možné i v on-line zapojení s elektroforetickými nebo chromatografickými separačními technikami². Všechny tyto možnosti jsou dnes intenzivně studovány, nicméně použití velmi nadějných technologií DNA-hybridizace pro stanovení chromosomové DNA se prozatím bez složitější přípravy vzorku příliš nedaří. V budoucnu by mohl být prob-

lém vyřešen použitím automatických mikro-PCR systémů (PCR: polymerasová řetězová reakce)¹⁵. Jednou z nejnovějších technik je např. provedení DNA-hybridizace na velkém pracovním povrchu (povrch H) komerčně vyráběných paramagnetických kuliček a stanovení redoxní a nebo enzymatické značky indikující hybridizaci na malém povrchu indikační elektrody. Princip a využití této techniky je detailně popsán v cit.^{31,32}

Jak z výše uvedeného textu vyplývá, jsou elektrochemické biosenzory nástrojem s perspektivou k budoucím nanotechnologiím nejen v zemědělské a environmentální kontrole, ale i v celé škále vědních disciplín, jako je medicína, farmacie, molekulární biologie a další.

Práce na tomto článku byla finančně podporována grantem FRVŠ č. 1203/2003 a MSM 432100001 Ministerstva školství a tělovýchovy České republiky a projektem č. A 1163201 Grantové agentury Akademie věd České republiky.

LITERATURA

- Mello L. D., Kubota L. T.: *Food Chem.* 77, 237 (2001).
- Bossi A., Piletsky S. A., Righetti P. G., Turner A. P. F.: *J. Chromatogr., A* 892, 143 (2000).
- Skládal P.: *Biosensory*, str. 149. Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity, Brno 1999.
- Hasoň S., Dvořák J., Jelen F., Vetterl V.: *Crit. Rev. Anal. Chem.* 32, 167 (2002).
- Hasoň S., Vetterl V.: *Bioelectrochemistry* 56, 43 (2002).
- Fennouh S., Casimiri V., Geloso-Meyer A., Burstein C.: *Biosens. Bioelectron.* 13, 903 (1998).
- Blake D. A., Jones R. M., Blake R. C., Pavlov A. R., Darwish I. A., Yu H.: *Biosens. Bioelectron.* 16, 799 (2001).
- Trojanowicz M., Hitchman M. L.: *Trends Anal. Chem.* 15, 38 (1996).
- Skládal P., Fiala M., Krejčí J.: *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 65, 139 (1996).
- Neufeld T., Eshkenazi I., Cohen E., Rishpon J.: *Biosens. Bioelectron.* 15, 323 (2000).
- Young S. J., Hart J. P., Dowman A. A., Cowell D. C.: *Biosens. Bioelectron.* 16, 887 (2001).
- Huebra G. M. J., Hernández P., Ballesteros Y., Hernández L.: *Talanta* 54, 1077 (2001).
- Bachmann T. T., Schmid R. D.: *Anal. Chim. Acta* 401, 95 (1999).
- Wang J., Rivas G., Cai X., Paleček E., Nielsen P., Shiraiishi H., Dontha N., Luo D., Parrado C., Chicharro M., Farias P. A. M., Valera F. S., Grant D. H., Ozsoz M., Flair M. N.: *Anal. Chim. Acta* 347, 1 (1997).
- Lowe C. R.: *Curr. Opin. Chem. Biol.* 3, 106 (1999).
- Fojta M.: *Electroanalysis* 14, 1449 (2002).
- Chiti G., Marrazza G., Mascini M.: *Anal. Chim. Acta* 427, 155 (2001).
- Marrazza G., Chianella I., Mascini M.: *Anal. Chim. Acta* 387, 297 (1999).
- Kizek R., Havran L., Fojta M., Paleček E.: *Bioelectrochemistry* 55, 119 (2002).
- Han S., Li X., Guo G., Sun Y., Yuan Z.: *Anal. Chim. Acta* 405, 115 (2000).
- Tomschik M., Jelen F., Havran L., Trnková L., Nielsen P. E., Paleček E.: *J. Electroanal. Chem.* 476, 71 (1999).
- Nielsen P. E.: *Acc. Chem. Res.* 32, 624 (1999).
- Wang J., Chicharro M., Rivas G., Cai X. H., Dontha N., Farias P. A. M., Shiraiishi H.: *Anal. Chem.* 68, 2251 (1996).
- Oliveira-Brett A. M., Silva L. A.: *Anal. Bioanal. Chem.* 373, 1717 (2002).
- Kerman K., Meric B., Ozkan D., Kara P., Erdem A., Ozsoz M.: *Anal. Chim. Acta* 450, 45 (2001).
- Paleček E., Fojta M., Tomschik M., Wang J.: *Biosens. Bioelectron.* 13, 621 (1998).
- Kramer K. J., Morgan T. D., Throne J. E., Dowell F. E., Bailey M., Howard J. A.: *Nature Biotechnol.* 18, 670 (2000).
- Masařík M., Kizek R., Kramer K. J., Billová S., Brázdová M., Vacek J., Bailey M., Jelen F., Howard J. A.: *Anal. Chem.* 75, 2663 (2003).
- Gilmartin M. A. T., Hart J. P.: *Analyst* 120, 1029 (1995).
- Bentley A., Atkinson A., Jezek J., Rawson D. M.: *Toxicol. in Vitro* 15, 469 (2001).
- Paleček E., Kizek R., Havran L., Billová S., Fojta M.: *Anal. Chim. Acta* 469, 73 (2002).
- Paleček E., Billová S., Havran L., Kizek R., Mičulková A., Jelen F.: *Talanta* 56, 919 (2002).

R. Kizek^a, J. Vacek^{a,b}, L. Trnková^c, B. Klejduš^a, and V. Kubáň^a (^aDepartment of Chemistry and Biochemistry, Mendel University of Agriculture and Forestry, ^bDepartment of Botany and Plant Physiology, Mendel University of Agriculture and Forestry, ^cDepartment of Theoretical and Physical Chemistry, Masaryk University): **Electrochemical Biosensors in Agricultural and Environmental Analysis**

The technology of biosensors has found extensive applications in clinical diagnostics, genomics and proteomics, environmental protection, and industry, as well as in studies of biological processes in cases where classical analytical techniques are not applicable. In this communication, the use of potentiometric and amperometric biosensors for chemical analysis in agriculture and environmental science are briefly reviewed with emphasis on the determination of toxic substances, such as heavy metals, pesticides, and selected organic pollutants. Also covered are some modern electrochemical trends, particularly the use of solid carbon electrodes in DNA-hybridization and enzymatic modification (avidin-biotin technology), related to the determination of specific sequences in mRNA or DNA. An important application of solid electrodes, modified with nucleic acids or proteins, is in the field of genom investigation of agricultural pests or pathogenic organisms in the environment, or in the determination of specific proteins in organisms. The modified electrodes, in conjunction with compact, portable diagnostic instrumentation, also seem to be promising for the investigation of DNA damage, which could be important for the identification of genotoxic effects of harmful substances on organisms.

SELEKTIVNÍ KATALYTICKÁ REDUKCE NO_x UHLOVODÍKY V OXIDAČNÍ ATMOSFÉRE NA ZEOLITOVÝCH KATALYZÁTORECH

LIBOR ČAPEK a BLANKA WICHTERLOVÁ

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

Došlo 10.1.03, přepracováno 26.3.03, přijato 4.4.03.

Klíčová slova: oxidy dusíku, selektivní katalytická redukce uhlovodíky, zeolity

Obsah

1. Úvod
 - 1.1. NO_x, zdroje a dopad na životní prostředí
 - 1.2. Odstranění NO_x z exhalátů
2. Selektivní katalytická redukce NO_x uhlovodíky
 - 2.1. Katalyzátory
 - 2.2. Selektivní katalytická redukce NO_x uhlovodíky na zeolitových katalyzátorech
 - 2.2.1. Základní představa
 - 2.2.2. Mechanismus
 - 2.2.3. Vliv uhlovodíku a typu kationtu iontově vyměněného do matrice zeolitu
3. Vliv vodní páry na selektivní katalytickou redukcí NO_x uhlovodíky
 - 3.1. Co-zeolity
 - 3.2. Fe-zeolity
 - 3.3. Pt-zeolity
 - 3.4. Pd-zeolity
 - 3.5. Ga- a In-MFI
 - 3.6. Cu-zeolity
4. Závěr

1. Úvod

1.1. NO_x, zdroje a dopad na životní prostředí

V atmosféře se vyskytuje sedm oxidů dusíku o složení NO, NO₂, NO₃, N₂O, N₂O₃, N₂O₄ a N₂O₅, mezi nimiž probíhají chemické reakce¹. Nejvýznamnějšími složkami emisí oxidů dusíku, pocházejících ze spalovacích a průmyslových zdrojů jsou NO, NO₂ a N₂O. Asi 70 % celkového množství všech emisí oxidů dusíku představuje NO (cit.^{2,3}), který se v atmosféře rychle oxiduje na NO₂ (cit.^{4,5}). Emise NO a NO₂ jsou běžně definovány jako emise NO_x.

Všechny oxidy dusíku výrazně ovlivňují rovnováhu ekosystému a mají negativní vliv na zdraví živých organismů. Jsou schopny zasáhnout všechny části dýchacího ústrojí a jsou hlavní příčinou fotochemického smogu a kyselých dešťů⁶.

Doba života oxidů dusíku v atmosféře je přibližně 120 roků (cit.⁷).

N₂O se výrazně podílí na klimatických změnách a do atmosféry uniká hlavně při denitrifikačních procesech a výrobě kyseliny adipové. Přestože jde o skleníkový plyn, který v atmosféře přetrvává nejdéle ze všech oxidů dusíku, v současné době neexistují limity emisí této složky v exhalátech. Avšak současné emise N₂O v Evropě, které činí 1200–1300 kt N₂O-N (vztaženo na atom N) za rok, bude nutné v nejbližší době snížit na 200–250 kt N₂O-N (vztaženo na atom N) za rok⁸.

Elektrárny spalující fosilní paliva nebo zemní plyn, chemický průmysl (např. výroba kyseliny dusičné) a spalovací turbíny představují stacionární zdroje NO_x. Naopak mobilními zdroji NO_x jsou dopravní prostředky⁹ spalující benzín, zemní plyn nebo dieselová paliva³. Hlavní podíl NO_x je emitován do atmosféry při spalovacích procesech¹⁰. Přírodní zdroje NO_x, jako atmosférické výboje¹¹ a produkce půdními mikroby, tvoří v současné době méně významnou část¹⁰.

Motory spalující benzínová paliva zpravidla pracují se stechiometrickou směsí, kde množství přidávaného vzduchu přesně odpovídá konverzi paliva na CO₂ a vodu. Poměr vzduch/palivo je pro stechiometrickou směs 14,7 (cit.¹²). V polovině 80. let byl pro likvidaci NO_x ze stechiometrických směsí vyvinut tzv. třicestný katalyzátor, který je široce aplikován jako součást všech benzínových motorů.

Motory spalující dieselová paliva¹³ stejně tak jako většina stacionárních zařízení naproti tomu pracují v přebytku vzduchu. Poměr vzduch/palivo je pro tyto směsi v rozsahu 21–23 (cit.¹²). K odstranění NO_x ze stacionárních zdrojů se v oxidační atmosféře využívá selektivní katalytická redukce NO_x (SCR-NO_x) amoniakem, avšak doposud nebyla vyvinuta žádná technologie pro odstranění NO_x z mobilních zdrojů oxidací.

Další nároky na snížení obsahu škodlivých látek (oxidů dusíku, síry a uhlíku, organických sloučenin apod.) v exhalátech, dle norem 98/69/EC (tab. I), podstatně zvýší výdaje na kontrolu emisí v zemích EU, a to odhadem ze současných 58,5 na 66 miliard EUR/rok. Z navýšených výdajů připadá 60 %, tj. 4,5 miliard EUR/rok, na zvýšení účinnosti odstranění NO_x.

Tabulka I

Emisní limity pro osobní automobily v g.km⁻¹

Směrnice	Platnost od	Osobní automobily s motory spalujícími					
		benzín			diesel		
		CO	C _x H _y	NO _x	CO	C _x H _y	NO _x
EURO I	1.7.1992	4,05	0,66	0,49	2,88	0,20	0,78
EURO II	1.1.1996	3,28	0,34	0,25	1,06	0,19	0,73
EURO III ^a	1.1.2000	2,30	0,20	0,15	0,64	0,06	0,50
EURO IV ^a	1.1.2005	1,00	0,10	0,08	0,50	0,05	0,25

^a Směrnice 98/69/EC

(cit.¹⁴). Zlepšení současných technologií odstranění NO_x z exhalátů a nalezení nového technického způsobu odstranění NO_x z exhalátů (oxidační nebo redukční atmosféra a koncentrace NO_x) a procesu při kterém k emisi NO_x dochází. Existují dva hlavní technologické přístupy omezení obsahu NO_x v emisích, primární a sekundární¹. Primárním opatřením je kontrola obsahu dusíku v palivu a užití hořáků s nižší teplotou. Sekundární způsoby odstranění NO_x z exhalátů se dělí na absorpční a katalytické, přičemž široké aplikace doznalo použití třícestného katalyzátoru a technologie SCR-NO_x amoniakem s použitím V₂O₅-WO₃/TiO₂ jako katalyzátoru.

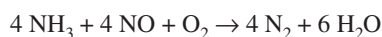
1.2. Odstranění NO_x z exhalátů

Způsob odstranění NO_x z exhalátů záleží především na zdroji emisí (mobilní nebo stacionární), použitím palivu, složení exhalátů (oxidační nebo redukční atmosféra a koncentrace NO_x) a procesu při kterém k emisi NO_x dochází. Existují dva hlavní technologické přístupy omezení obsahu NO_x v emisích, primární a sekundární¹. Primárním opatřením je kontrola obsahu dusíku v palivu a užití hořáků s nižší teplotou. Sekundární způsoby odstranění NO_x z exhalátů se dělí na absorpční a katalytické, přičemž široké aplikace doznalo použití třícestného katalyzátoru a technologie SCR-NO_x amoniakem s použitím V₂O₅-WO₃/TiO₂ jako katalyzátoru.

Absorpční procesy jsou vhodné pro malotonážní zdroje NO_x a pro zdroje s proměnlivou koncentrací NO_x. Hlavní výhodou je současné odstranění oxidů dusíku a síry. Naproti tomu nevýhodou je tvorba odpadních vod s vysokým obsahem dusičnanů a dusitanů a nízká rozpustnost NO_x. Z tohoto důvodu je nutné převedení NO_x na NO₂, což je finančně náročné.

Třícestný katalyzátor současně eliminuje CO, NO_x a uhlovodíky (C_xH_y) na základě katalytické redukce NO_x na N₂ a oxidace CO a C_xH_y na CO₂ a H₂O (cit.^{15,16}). Katalyzátorem je ušlechtilý kov (Pt, Rh nebo Pd) nanesený na alumině a na keramickém nosiči. Hodnoty konverze všech tří složek výrazně závisí na poměru vzduch/palivo¹⁷, přičemž třícestný katalyzátor efektivně oxiduje C_xH_y a CO a stejně tak redukuje NO_x pouze v úzkém rozmezí poměru vzduch/palivo¹⁸. Efektivní využití třícestného katalyzátoru je dosaženo pro stechiometrický poměr vzduchu a paliva. S rostoucí koncentrací vzduchu významně klesá konverze NO_x.

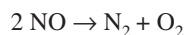
SCR-NO_x amoniakem v oxidační atmosféře¹ je technologie používaná výhradně u stacionárních zdrojů (např. elektrárny¹⁹) a popisuje ji chemická reakce



Převážně je využíván V₂O₅-WO₃/TiO₂ katalyzátor²⁰, efektivní v teplotním rozsahu 250–400 °C. Avšak v poslední době byly navrženy jako katalyzátory také Cu-zeolity^{21–24}, které redukují NO_x na N₂ amoniakem za teplot 180–250 °C. Jejich využití spadá do oblasti odstranění NO_x z chemických výrob, kde je za současné technologie nutné ohřívání odpadních plynů.

Zásadním problémem SCR-NO_x amoniakem je skladování, doprava a nástřik silně korozivního amoniaku do systému a únik případně nezreagovaného amoniaku¹. V současné době je únik amoniaku limitován hodnotou 2 ppm, což vyžaduje vysoký stupeň kontroly procesu. S rostoucími požadavky na bezpečnost práce s amoniakem bude nezbytné nahrazení dosavadní technologie jiným způsobem odstranění NO_x z exhalátů. Nejpravděpodobnější je využití jiného, nezávadného redukčního činidla, přičemž pro praktické využití v širokém měřítku je nadějně především použití parafinů.

Z technologického hlediska by byl velice atraktivní přímý rozklad NO na molekulární dusík a kyslík^{25–27} bez použití redukčního činidla podle chemické reakce,



kteřá je z termodynamického hlediska možná ($\Delta G_{298}^0 = -87,0 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$), ale její rychlost je negativně ovlivněna vysokou hodnotou aktivační energie. Jako katalyzátory přímého rozkladu²¹ byly testovány ušlechtilé kovy a oxidy s nižší valencí²⁸. Ty katalyzují rozklad NO, avšak vznikající kyslík ihned oxiduje kovové a oxidové katalyzátory, které se ireverzibilně deaktivují. Jedinými katalyzátory vykazujícími relativně vysokou a stabilní aktivitu v přímém rozkladu NO jsou vysokosilikátové zeolity s iontově vyměněnými Cu ionty, jako např. Cu-MFI (cit.^{29,30}), Cu-BEA (cit.^{30,31}). V důsledku nízkého negativního náboje ve skeletu Cu-MFI zeolitu je výrazně snížen pozitivní náboj na Cu iontech. Tím se stabilizuje monovalentní stav Cu iontů, jež jsou aktivními centry pro přímý rozklad NO. Avšak přebytek vodní páry v exhalátech významně snižuje aktivitu tohoto katalyzátoru. Zejména tato skutečnost má za následek, že i přes intenzivní výzkum nemá v blízké budoucnosti technologie přímého rozkladu NO_x reálnou naději na realizaci.

2. Selektivní katalytická redukce NO_x uhlovodíky

O SCR-NO_x uhlovodíky byla publikována celá řada přehledných prací^{12,32–35}. Tento postup odstranění NO_x v oxidační atmosféře má potenciální uplatnění pro odstranění NO_x jak ze stacionárních, tak i z mobilních zdrojů, kde doposud nebyla vyvinuta potřebná technologie. Problémem je stále nízká aktivita katalyzátoru za reálných podmínek a zejména malá odolnost katalyzátoru k vodní páře (~10 obj.%) a SO₂ (~150 ppm). Deaktivace katalyzátoru v důsledku přítomnosti SO₂ je způsobena oxidací SO₂ na SO₃ a následnou tvorbou sulfátů příslušných kovů. Vzhledem k tomu, že se předpokládá významné snížení obsahu síry v palivech, nejsou studie vlivu SO₂ na SCR-NO_x uhlovodíky středem hlavní pozornosti. Ta se obrací zejména ke studiu vlivu vodní páry.

Dostatečně účinný katalyzátor by měl vykazovat vysokou aktivitu, selektivitu a odolnost za vysokých prostorových rychlostí (30 000–60 000 h⁻¹) a v širokém rozmezí teplot (250–550 °C).

2.1. Katalyzátory

V 90. letech Iwamoto a spol.³⁶ a Held a spol.³⁷ nezávisle objevili a patentovali^{38,39} redukcí NO uhlovodíky na Cu-MFI katalyzátoru v přebytku kyslíku. Tato oblast výzkumu doznala pro svou vysokou aktuálnost velké pozornosti. Vedle katalyzátorů na bázi zeolitů, o kterých je pojednáno níže, bylo publikováno^{40–45} využití oxidů kovů (Cu, Co, Ni, Mn, Fe, Ag, V, Cr, Pt, Rh, Pd) nanesených na anorganických nosičích, přičemž obecně bylo dosaženo vyšší aktivity pro oxidy kovů nanesené na alumině jako nosiči, než na silice. Ag-Al₂O₃ patří mezi nejaktivnější katalyzátory na bázi oxidů kovů. Tento katalyzátor vykazoval vysokou aktivitu v přítomnosti vodní páry za použití methanu^{42,43}, ale i oktanu⁴⁶ jako redukčního činidla.

Zeolity jsou trojrozměrné, mikroporézní, krystalické aluminosilikáty s definovanou vnitřní strukturou a vysokým vnitřním povrchem (cca 400–800 m²·g⁻¹). Krystalická struktura

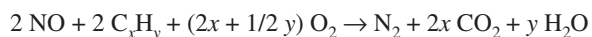
poskytuje přesně uspořádaný systém vnitřních kanálů a vysokou kapacitu iontové výměny. Chemické složení zeolitů ve formě oxidů je dáno vzorcem $M_{2m}O \cdot Al_2O_3 \cdot xSiO_2 \cdot tH_2O$, kde n je valence kationtu a s a t je obsah SiO_2 a H_2O v zeolitu. Složení jednotkové cely vyjadřuje strukturální vzorec $M_{x/n}[(AlO_2)_x(SiO_2)_y] \cdot wH_2O$, kde w je obsah H_2O a y/x znamená molární poměr Si/Al v krystalické mřížce.

Minimální molární poměr Si/Al ve skeletu je 1, protože podle Loewensteinova pravidla jsou zakázány vazby Al-O-Al. Mezi zeolity s vysokým obsahem Al patří např. zeolity⁴⁷ typu A s Si/Al = 1 a faujasity (X, Y) (Si/Al = 1,2–3,0). Zeolity s vysokým obsahem Si (vysokosilikátové) zahrnují např. morđenit (MOR), ferrierit (FER), ZSM-5 (MFI) a beta (BEA) zeolit. Pro tyto zeolity je poměr Si/Al ≥ 8 (cit.⁴⁷).

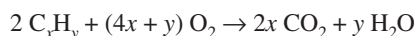
2.2. Selektivní katalytická redukce NO_x uhlovodíky na zeolitových katalyzátorech

2.2.1. Základní představa

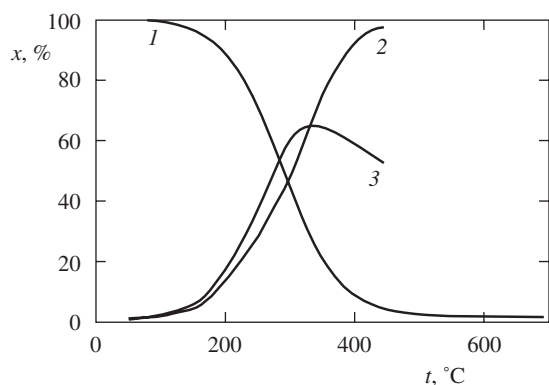
SCR- NO_x uhlovodíky v oxidační atmosféře probíhá podle chemické reakce



Zpravidla je nutná vyšší koncentrace uhlovodíku (molární poměr C/N > 1), než jaká odpovídá stechiometrii reakce, protože současně s redukcí NO může docházet i k oxidaci uhlovodíku



Konverze NO na N_2 v závislosti na teplotě vykazuje maximum, zatímco konverze uhlovodíku monotónně roste do hodnoty 100 % (obr. 1). Průběh konverze NO na N_2 je ovlivněn dvěma faktory, jednak termodynamickou rovnováhou NO- NO_2 , jednak spalováním uhlovodíku kyslíkem za vyšší teploty. S rostoucí teplotou se posouvá termodynamická rovnováha NO- NO_2 ve prospěch NO, což působí proti směru jednoho ze stupňů redukce NO_x , kterým je oxidace NO na NO_2 . S rostoucí teplotou se rovněž zvyšuje nežádoucí spalování



Obr. 1. Závislost konverze NO na N_2 (1) a celkové konverze uhlovodíku (2) na teplotě pro SCR- NO_x uhlovodíky; termodynamická rovnováha NO- NO_2 vyjádřena jako výtěžek NO_2 (3)

uhlovodíku kyslíkem snižující množství uhlovodíku podílejícího se na redukci NO_x .

Aktivita katalyzátoru pro SCR- NO_x uhlovodíky je dána výtěžkem N_2 a selektivním využitím uhlovodíku, definovaným jako podíl uhlovodíku účastnícího se redukce NO_x a celkově zreagovaného uhlovodíku. Dále je sledována selektivita redukce NO_x vzhledem k N_2 (nežádoucími produkty jsou NO_2 , N_2O a organické dusíkaté sloučeniny) a selektivita oxidace uhlovodíku vzhledem k CO_2 (nežádoucí produktem je CO). SCR- NO_x uhlovodíky vedoucí k vysokému obsahu N_2O a CO by vyžadovala následné odstranění těchto produktů a má menší naději na praktické uplatnění. Tvorbou vedlejších produktů je zásadně ovlivněna⁴⁸ katalyzátorem a dále použitým uhlovodíkem, složením NO_x a přítomností vodní páry a SO_2 .

2.2.2. Mechanismus

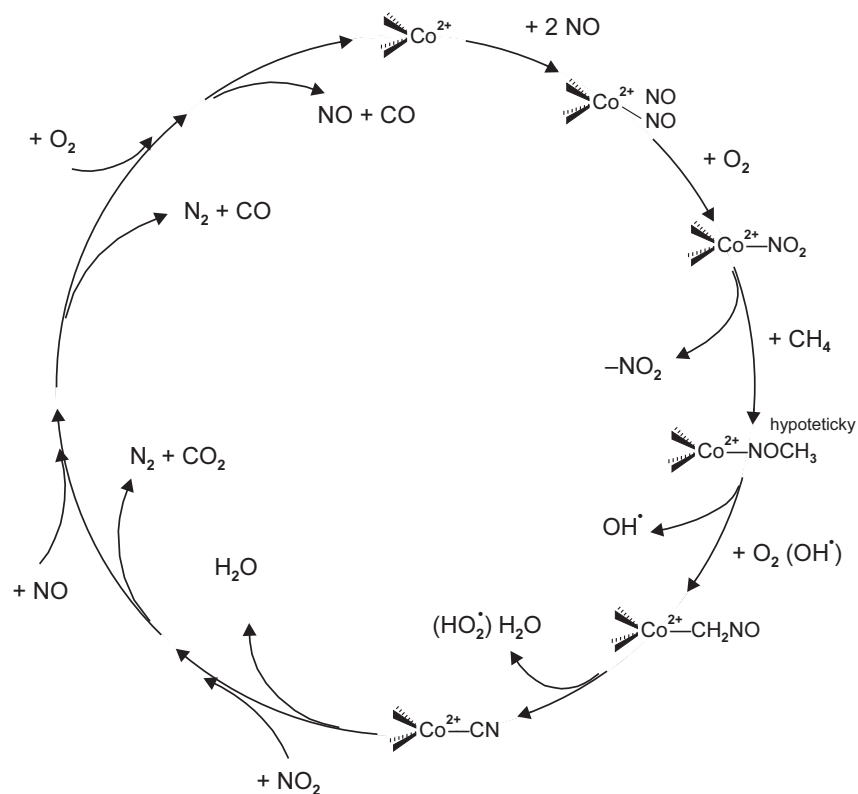
Prvním stupněm SCR- NO_x uhlovodíky je oxidace NO na NO_2 , který dále tvoří komplexy typu NO_y (kde $y \geq 2$), což bylo prokázáno^{49–54} studiem SCR- NO_x uhlovodíky v systémech NO- CH_4 - O_2 a CH_4 - NO_2 . Obecně s rostoucí koncentrací kyslíku roste aktivita zeolitu, která dosahuje konstantní hodnoty okolo 2 obj.% kyslíku^{55,56}. Oxidace NO může probíhat na kationtech přechodných kovů⁵⁷ dispergovaných oxidových klastrech⁵² a Lewisových centrech^{49,58}, přičemž se předpokládalo, že kyslík adsorbovaný na Lewisových centrech je aktivován elektrostatickou polarizací pocházející ze struktury zeolitu⁵⁹. V poslední době však je diskutována zásadní role stopového množství Fe na oxidaci NO (cit.⁶⁰), avšak prozatím nebyla určena struktura aktivních Fe center při stopových koncentracích.

Limitujícím krokem SCR- NO_x methanem je roztržení C-H vazby za vzniku volného radikálu^{50,61–66}. Cowan a spol.^{61,62} k tomuto závěru dospěli na základě isotopového efektu při použití CH_4 a CD_4 . Tento efekt však nebyl pozorován při použití 2-methylpropanu^{62,67}, kde je limitujícím stupněm parťně oxidace NO nebo rozklad povrchového meziprojektu.

K aktivaci uhlovodíku dochází^{57,65} při reakci s adsorbovanými komplexy NO_y ($y \geq 2$). Předpokládá se, že vznikají organické nitroso-, případně nitrosoloučeniny, které se dále podílejí na tvorbě molekuly N_2 . V případě reakce NO_x s methanem je vyloučena tvorba olefinů, ale je možné spojení dvou methylových radikálů na ethan⁵⁰. Komplikovanější situace je u vyšších uhlovodíků. Odtržením H atomu z propenu vznikal allylový radikál a isokyanát nebo HCN⁶⁸ jako meziprojekt, naopak u propanu tento meziprojekt pozorován nebyl^{65,69}, ale vznikal sekundární propylový radikál⁷⁰.

Isotopové značení atomů dusíku ^{14}N a ^{15}N v molekule NO prokázalo^{70,71}, že při vzniku molekuly dusíku pochází jeden atom dusíku z adsorbovaného dusíkatého meziprojektu a druhý z plynné molekuly NO.

I přes dlouhodobý výzkum mechanismu SCR- NO_x uhlovodíky na zeolitových katalyzátorech se nepodařilo jednoznačně prokázat sled elementárních reakcí. Přestože jsou základní aspekty SCR- NO_x uhlovodíky (role kyslíku, první stupeň, limitující stupeň, tvorba molekuly N_2) podobné, nelze mechanismus SCR- NO_x uhlovodíky vystihnout jedním, univerzálním mechanismem, avšak sled radikálových reakcí je specifický pro určitý typ katalyzátoru a uhlovodíku. Byly navrženy jednotlivé mechanismy, např. pro SCR- NO_x methanem na Pd-MFI (cit.⁷²), Co-MFI (cit.^{73,74}) (obr. 2), Co-FER

Obr. 2. Předpokládaný reakční mechanismus SCR-NO_x methanem na Co-ZSM-5

(cit.⁵⁷), Cu-MFI (cit.⁷³) a Fe-MFI (cit.⁷³), SCR-NO_x propanem na Cu-MFI (cit.⁶³) a Fe-MFI (cit.⁷⁵), SCR-NO_x propanem na Cu-MFI (cit.⁷⁶) a Ag/γ-Al₂O₃ (cit.^{77,78}) a SCR-NO_x 2-methylpropanem⁶⁷ na M-MFI (M = Cu, Co, Fe) předpokládající sled radikálových reakcí.

Znalost mechanismu je nezbytná pro vývoj optimální struktury katalyzátoru, stejně tak jako pro optimální vedení celého procesu. Na základě studií mechanismu byly charakterizovány vlastnosti katalyzátoru vhodného pro SCR-NO_x uhlovodíky. Katalyzátor by měl vykazovat vysokou kapacitu pro adsorpci NO a uhlovodíku, vysokou rychlost oxidace NO na NO₂ a vysoký stupeň konverze redukce NO_x a naopak nízký stupeň konverze oxidace uhlovodíku molekulárním kyslíkem⁷⁹.

2.2.3. Vliv uhlovodíku a typu kationtu iontově vyměněného do matrice zeolitu

Uhlovodíky se pro daný katalyzátor dělí vzhledem k redukci NO_x na selektivní a neselektivní²¹. Methan je selektivním redukčním činidlem pro Co (cit.^{50,64}), Pd (cit.⁸⁰⁻⁸⁴), Ga a In (cit.^{49,85,86}) ve vysokosilikátových zeolitech, zatímco pro Cu-MFI (cit.^{21,64,87,88}) a Fe-MFI (cit.^{71,89}) je neselektivním redukčním činidlem. Adsorbované komplexy NO₃ nejsou v případě Cu-MFI schopny odstranění atomu H z molekuly CH₄ (cit.⁹⁰), ale naopak přednostně probíhá oxidace CH₄ na CO₂ (cit.⁶³). Avšak Cu-NO₃ komplexy reagují s vyššími uhlovodíky, např. propanem⁹⁰. Obecně lze shrnout, že aktivita a selektivita katalyzátoru pro SCR-NO_x je výrazně vyšší při použití propanu nebo 2-methylpropanu, než methanu jako redukčního činidla.

Katalytická aktivita M-MFI (M = Co (cit.^{52,64,79,91}), Cu (cit.^{55,92-94}), Pd (cit.⁸⁴), Fe (cit.^{95,96}), Ga (cit.⁹⁷) a Pd (cit.^{81,84}), M-BEA (M = Co (cit.^{98,99}), Cu (cit.⁵⁵)) a dalších zeolitů (Co-FER (cit.¹⁰⁰), Cu-Y (cit.⁹⁴) apod.) obecně roste s množstvím vyměněného kationtu do stupně iontové výměny 80–100 %. Další zvýšení koncentrace kationtu v zeolitu obecně vede k poklesu katalytické aktivity, případně selektivity katalyzátoru⁹⁹. Zatímco v zeolitech s nižším stupněm iontové výměny je převážná část kationtů přítomná ve formě jedno- nebo dvojmocného iontu, za vyššího stupně iontové výměny byl popsán výskyt oxo-komplexů [Cu-O-Cu]²⁺ (cit.⁹⁰), [HO-Fe-O-Fe-OH]²⁺ (cit.¹⁰¹), μ-oxo kobaltových center⁹⁹ apod. U zeolitů obsahujících více kovu než odpovídá výměnné kapacitě byla pozorována přítomnost oxidových „klastřů“ jako jsou PdO (cit.⁸⁴), Co₃O₄ (cit.⁹⁸), CuO (cit.⁹⁰) apod. Vznik oxidové složky byl rovněž popsán v souvislosti s deaktivací katalyzátoru v průběhu SCR-NO_x uhlovodíky⁸⁰. To naznačuje, že aktivními centry jsou iontově vyměněné kationty kovů koordinované k matici zeolitu a ne oxidové částice, které se tvoří při vyšším obsahu kationtů v zeolitu.

3. Vliv vodní páry na selektivní katalytickou redukci NO_x uhlovodíky

Vodní pára je silný konkurenční adsorbent k reaktantům SCR-NO_x uhlovodíky. Přibližně 10–12 obj.% H₂O je obsaženo v reálných exhalátech ze spalovacích procesů a z chemického průmyslu a jen cca 0,1 obj.% H₂O vzniká v průběhu reakce¹⁰².

Tabulka II

Aktivita vybraných katalyzátorů pro SCR-NO_x uhlovodíky v přítomnosti vodní páry a SO₂

Katalyzátor	<i>x</i> (NO na N ₂) [%]	C _x H _y	<i>T</i> [°C]	<i>c</i> (H ₂ O) [obj.%]	<i>c</i> (SO ₂) [ppm]	Zatížení katalyzátoru ^a [h ⁻¹]	Stabilita [h]	Poznámky	Lit.
Co-MFI	90	isobutan	390	10	–	42 000	50	příprava sublimací CoCl ₂	118
Co-MFI	96	isobutan	400	10	–	42 000	100	příprava sublimací CoBr ₂	119
Co-BEA	73	propan	400	9	0,3	15 000	4 000		79,112
Fe-MFI	95	isobutan	500	20	150	4 200	2 500	nebylo reprodukováno	95
Fe-MFI	76	isobutan	375	10	–	42 000	–		96
Fe-MFI	80	propan	350	7	–	7 500	–		123
FeLa-MFI	90	isobutan	350	10	–	42 000	100	La: nárůst <i>x</i> (NO na N ₂) ze 70 na 90 %	103
CoPt-MFI	55	propen	350	6	200	19 500	–	0,1 hm.% Pt, selektivita na N ₂ 90 %	58
PdCo-MFI	65	methan	500	10	–	740	40	0,4 hm.% Pd, 3,3 hm.% Co	83
PdCe-MOR	58	dodekan	350	15	100	30 000	240		144
IrIn-MFI	59	methan	500	5	–	36 000	–	0,2 hm.% Ir	85,148
PtIn-MFI	68	methan	500	5	–	36 000	–	1 hm.% Pt	85

^a Objem plynné směsi při laboratorní teplotě a tlaku dávkovaný za jednotku času na jednotku objemu lože katalyzátoru (GHSV)

Jak již bylo uvedeno v kapitole 2, odolnost katalyzátoru k vodní páře je jedním z klíčových problémů aplikace SCR-NO_x uhlovodíky (tab. II). Katalyzátor může v přítomnosti vodní páry podléhat reverzibilní nebo ireverzibilní deaktivaci. Reverzibilní deaktivace zeolitu je způsobena adsorpcí molekul vody na aktivních centrech, protože molekuly vody jsou stejně jako NO_x Lewisovy báze a adsorbují se na stejných centrech¹⁰². Ireverzibilní deaktivace je způsobena hydrolyzou atomů Al z mřížky zeolitu vedoucí ke ztrátě kapacity iontové výměny zeolitu a k přeměně aktivních center kationtu na oxidové klastry. Studie vlivu vodní páry na aktivitu rozličných struktur katalyzátorů pro SCR-NO_x uhlovodíky prokázala, že většina katalyzátorů na bázi zeolitů podléhá v přítomnosti vodní páry pouze reverzibilnímu poklesu aktivity.

Vliv vodní páry na aktivitu zeolitu pro SCR-NO_x uhlovodíky byl vysvětlen na základě kinetiky reakce. K popisu SCR-NO_x methanem na Co-MFI (cit.¹⁰²) a Co-FER (cit.¹⁰⁰) byl použit Langmuirův-Hinshelwoodův mechanismus. Byl vysloven předpoklad, že molekuly vody jsou v zeolitu adsorbovány na centrech, aktivních jak pro redukci NO, tak pro oxidaci uhlovodíku. S rostoucí teplotou reakce se snižuje rovnovážná adsorpce molekul vody na aktivních centrech, čímž se snižuje i negativní vliv vodní páry na katalytickou aktivitu.

Přestože pro většinu katalyzátorů vodní pára a SO₂ působí negativně na katalytickou aktivitu redukce NO uhlovodíky, u některých katalyzátorů byla aktivita redukce NO uhlovodíky v přítomnosti vodní páry (Fe-MFI^{96,97,103}, Pd-MOR¹⁰⁴), resp. v přítomnosti SO₂ (Pd-Pt/ZrS₂) (cit.¹⁰⁵) naopak zvýšena. Tento jev zatím nebyl objasněn.

3.1. Co-zeolity

V závislosti na matici zeolitu byla nalezena následující pořadí aktivit Co-zeolitů pro redukci NO methanem v nepřítomnosti vodní páry MFI > FER > BEA >> MOR >> CHA ≈

FAU (cit.^{30,106}). Ve struktuře zeolitů Co-MFI (cit.¹⁰⁷), Co-FER (cit.¹⁰⁸), Co-BEA (cit.¹⁰⁹) a Co-MOR (cit.¹¹⁰) byly určeny tři polohy izolovaných Co-iontů vykazujících rozdílnou aktivitu při redukci NO methanem. Zatímco ve strukturách FER a MOR vykazovaly nejvyšší aktivitu Co ionty vázané k mřížkovým kyslíkům hlavní kanálové struktury, ve struktuře MFI byly neaktivnější Co ionty koordinované v deformovaném šestičlenném kruhu na průsečíku rovného a sinusoidního kanálu¹⁰⁶.

Odlíšné pořadí aktivit Co-zeolitů bylo nalezeno pro SCR NO propanem v přítomnosti vodní páry^{79,111–113}, a to BEA > MFI > MOR >> FER >> Y.

Co-BEA vykazoval vysokou a stabilní aktivitu redukce NO propanem v přítomnosti 9 obj.% H₂O a 0,3 ppm SO₂ po dobu 4000 h (cit.^{79,112,114}). Po ukončení katalytického testu nebyly nalezeny změny struktury a ve skeletu zeolitu byl detegován¹¹⁵ pouze tetraedricky koordinovaný Al. Pouze atomárně dispergované Co ionty byly přítomny v Co-BEA až do maximálního stupně iontové výměny (100 %). Další Co-centra, identifikována jako μ-oxokobaltové komplexy byla pozorována v oblasti úplné iontové výměny^{98,99}. Oxidové klastry Co₃O₄ byly pozorovány v zeolitu s vyšší koncentrací Co než jaká odpovídá výměnné kapacitě, přičemž bylo prokázáno, že oxidové klastry jsou příčinou poklesu aktivity SCR-NO_x v důsledku zvýšení oxidace propanu.

Studium vlivu iontové vyměněných kokationtů (Ni, Ca, Sr, Ba, La, Mn, Ag) do struktury Co-BEA zeolitu prokázalo pozitivní vliv Ni (cit.^{116,117}) na aktivitu SCR-NO_x propanem v přítomnosti vodní páry. Přídavkem iontově vyměněného In (InNiCo-BEA) se dosáhlo dalšího zvýšení aktivity katalyzátoru za nižší teploty.

Co-MFI, připravený sublimací CoCl₂ nebo CoBr₂ vykazoval stabilní aktivitu redukce NO 2-methylpropanem v přítomnosti vodní páry po dobu 50 h (cit.¹¹⁸) nebo 100 h (cit.¹¹⁹). Stabilní aktivita Co-MFI byla přisouzena oxo-Co

iontům^{118,119}. Avšak dlouhodobější testy (400 h) prokázaly významnou ztrátu aktivity Co-MFI (cit.^{79,111,112}).

Zvýšení katalytické aktivity Co-MFI bylo docíleno přítomností Pd (cit.⁹¹), přičemž oba kationty byly dobře dispergované a lokalizované uvnitř kanálů zeolitu. Pozitivního efektu na katalytickou aktivitu Co-MFI bylo rovněž dosaženo⁵⁸ přidáním malého množství Pt (~0,1 hm. %).

3.2. Fe-zeolity

Fe-zeolity vykazují vysokou aktivitu SCR-NO_x C3 uhlovodíky, avšak v produktech se nalézá poměrně vysoká koncentrace nežádoucího CO (cit.^{96,103,120}).

Významným parametrem ovlivňujícím aktivitu Fe-zeolitových katalyzátorů je způsob zavedení Fe center do zeolitu. Byla popsána příprava Fe-MFI iontovou výměnou Fe(II) ve vodném roztoku solí dvojjazného železa FeSO₄ · 7 H₂O (cit.^{96,121}), FeC₂O₄ · 2 H₂O (cit.^{95,96}) nebo Fe(NO₃)₂ (cit.¹²²), iontovou výměnou s FeCl₂ v tuhé fázi (cit.¹²³) a sublimací FeCl₃ do H-MFI (cit.⁹⁶). V závislosti na pH byly při iontové výměně ve vodném roztoku přítomny Fe(II) ionty (pH < 2), [Fe(OH)]⁺ (pH 4) a FeOOH nebo⁹⁵ Fe(OH)₃ (pH > 5). Fe(III) nelze do vysokosilikátových zeolitů iontově vyměnit v důsledku nedostatečného lokálního záporného náboje skeletu.

Přestože Fe-MFI, připravený iontovou výměnou ve vodném roztoku FeC₂O₄ vykazoval vysokou a stabilní aktivitu při redukcí NO 2-methylpropanem⁹⁵ v přítomnosti 20 obj.% H₂O a 150 ppm SO₂ po dobu 2500 h, výsledky nebyly reprodukovatelné¹²⁴.

Fe-MFI připravený sublimací FeCl₃ do H-MFI vykazoval stabilní aktivitu redukcí NO 2-methylpropanem v přítomnosti⁹⁶ 10 obj.% H₂O, přičemž maximální hodnota konverze NO na N₂ byla vyšší než při redukcí NO propanem⁸⁹. Odolnost Fe-MFI k přítomnosti vodní páry byla vysvětlena přítomností oxo-Fe komplexů, snadno uvolňujících kyslík, přičemž tyto oxo-Fe komplexy tvořily přibližně 20 % Fe v zeolitu¹⁰¹. Jiná studie vysvětlila vysokou odolnost Fe-MFI k vodní páře na základě přítomnosti železa v tetraedrických nebo deformovaných tetraedrických polohách nechemisorbujících molekulu vody¹²⁵.

Fe-MFI připravený iontovou výměnou s FeCl₃ v tuhé fázi vykazoval¹²⁶ vysokou aktivitu redukcí NO propanem v přítomnosti vodní páry při teplotě >300 °C.

Za aktivní centrum SCR-NO_x uhlovodíky na Fe-MFI v přítomnosti vodní páry byl navržen můstkový komplex [HO-Fe-O-Fe-OH]²⁺, vyžadující přítomnost dvou blízkých AlO₂⁻ jednotek ve skeletu zeolitu^{96,127–129}.

Zvýšení katalytické aktivity Fe-MFI bylo dosaženo v přítomnosti La (cit.¹⁰³) a Pt (cit.¹²³). Zatímco La zvýšil oxidaci uhlovodíku kyslíkem, v přítomnosti malého množství Pt byla zvýšena oxidace nežádoucího CO na CO₂.

3.3. Pt-zeolity

Pt-zeolity jsou aktivní a stabilní katalyzátory pro SCR-NO_x v přítomnosti vodní páry při relativně nízkých teplotách 200–300 °C (cit.^{44,130–132}). Malá změna katalytické aktivity při redukcí NO byla po přidání vodní páry a SO₂ do reakční směsi nalezena pro Pt-Y (cit.^{130,132}) a Pt-MFI (cit.^{133–134}). Významnou nevýhodou Pt-zeolitů je však tvorba nežádoucího N₂O, často převyšující množství vzniklého N₂ (cit.^{44,130–132,135}).

3.4. Pd-zeolity

Přítomnost protonů v zeolitu se ukázala být významnou pro SCR-NO_x uhlovodíky na Pd-zeolitech. Byl prokázán bifunkční mechanismus zahrnující ionty Pd²⁺ a protony^{136–138}. Rovněž byla prokázána reakce mezi protony a klastry PdO za tvorby Pd²⁺ iontů^{139,140}. I přesto Pd-zeolity obsahující PdO klastry vykazovaly pokles aktivity SCR-NO_x methanem v důsledku zvýšené oxidace methanu^{141,142}. Klastry PdO byly rovněž prokázány v zeolitech, výrazně deaktivovaných v důsledku přítomnosti vodní páry^{80,81,143}.

Pouze Pd-MFI s nižším poměrem Si/Al (Si/Al = 15) byl aktivní v přítomnosti vodní páry⁸¹. Naopak Pd-MFI s vyšším Si/Al (Si/Al = 50) ztratil aktivitu při redukcí NO methanem již v nepřítomnosti vodní páry⁸⁰ a přítomnost vodní páry vedla k ireverzibilní ztrátě aktivity v průběhu 7 h (cit.⁸³). Katalytická aktivita Pd-MFI pro redukcí NO methanem byla efektivně zvýšena přítomností Co, Rh, Ag, Ce a Fe (cit.^{83,144,145}). Pd-MOR byl aktivní⁸⁰ pro SCR-NO_x methanem v nepřítomnosti vodní páry (30 h), avšak přítomnost vodní páry a SO₂ způsobila ztrátu prakticky veškeré aktivity^{80,105}.

Aktivní centra byla nezávisle na sobě určena jak Ramanovou spektroskopií^{80,81}, tak chemisorpcí NO spolu s kvantitativní analýzou iontů Pd²⁺ iontově vyměněných za ionty Na⁺ (cit.^{82,84}). Zatímco izolované, iontově vyměněné ionty Pd byly označeny za částice nezbytné pro vysokou aktivitu redukcí NO methanem v přítomnosti vodní páry^{80–82,84,146,147}, PdO klastry byly označeny za příčinu nežádoucí oxidace methanu¹⁴⁶.

3.5. Ga- a In-MFI

Ga-MFI a In-MFI jsou aktivní a vysoce selektivní katalyzátory pro SCR-NO_x methanem^{49,85,86}, přičemž vyšší aktivita redukcí NO methanem, a to jak v nepřítomnosti^{56,86} tak v přítomnosti vodní páry, byla popsána pro In-MFI (cit.^{49,85,97}). Byl navržen bifunkční reakční mechanismus, zahrnující oxidaci NO na kyselých centrech zeolitu a redukcí vzniklého NO₂ na Ga nebo In centrech.

Byla navržena dvě rozdílná vysvětlení vlivu vodní páry na katalytickou aktivitu redukcí NO methanem na Ga- a In-MFI předpokládající negativní vliv vodní páry jak na oxidaci NO na NO₂ (cit.^{49,85}), tak na adsorpci methanu⁹⁷.

Zvýšení katalytické aktivity redukcí NO methanem v přítomnosti vodní páry na In-MFI bylo dosaženo za přítomnosti Pt nebo Ir (cit.^{85,148}). V případě IrIn-MFI bylo prokázáno zvýšení rychlosti oxidace NO (cit.¹⁴⁹), tak i zvýšení množství chemisorbovaného NO₂ na InO⁺ centrech^{149,150}. Byla navržena představa, že molekuly NO difundují do porů zeolitu, kde jsou oxidovány kyslíkem na Ir centrech, přičemž vzniklé molekuly NO₂ se následně adsorbují na InO⁺, kde probíhá redukcí methanem.

3.6. Cu-zeolity

Cu-MFI vykazoval v nepřítomnosti vodní páry relativně vysokou katalytickou aktivitu redukcí NO uhlovodíky C3, avšak přítomnost vodní páry vedla k vysoké ztrátě této aktivity^{95,96}, což bylo pozorováno také u dalších Cu-zeolitů¹¹⁸. Zatímco zeolity s vyšší koncentrací kyselých center, tj. CuH-MFI (cit.¹⁰⁶) a CuH-FER (cit.¹⁰⁶), byly aktivnější při redukcí NO

methanem v nepřítomnosti vodní páry, zeolity s nízkou koncentrací kyselých center, tj. CuNa-MFI (cit.¹⁵¹) a CuNa-MOR (cit.¹⁵²), byly aktivnější při redukci NO propanem v přítomnosti vodní páry.

Za příčinu deaktivace Cu-zeolitů v přítomnosti vodní páry byla označena přeměna izolovaných Cu²⁺ iontů na oxidové částice¹⁵³ a dealuminace zeolitu¹⁵⁴. Částečné zvýšení stability katalyzátoru v přítomnosti vodní páry bylo pozorováno po zavedení La do matrice zeolitu¹⁵⁴⁻¹⁵⁶.

4. Závěr

SCR-NO_x uhlovodíky se jeví jako nadějný technologický proces pro odstranění NO_x z exhalátů spalovacích procesů. Problémem využití procesu SCR-NO_x uhlovodíky je stále nízká aktivita katalyzátoru za reálných podmínek a zejména odolnost katalyzátoru k přítomnosti vodní páry. Katalyzátory na bázi Fe-zeolitů a Pt-zeolitů s relativně vysokou stabilní aktivitou v přítomnosti vodní páry vykazují v produktech CO a N₂O. Jediným katalyzátorem na bázi zeolitu splňujícím podmínky pro vedení SCR-NO_x procesu je Co-BEA katalyzátor s využitím propanu jako redukčního činidla.

LITERATURA

1. Bosch H., Janssen F.: *Catal. Today* 2, 369 (1988).
2. Salles J., Janischewski J., Jaecker Voirol A., Martin B.: *Atmos. Environ.* 30, 1965 (1996).
3. Frost J. C., Smedler G.: *Catal. Today* 26, 207 (1995).
4. Syri S., Amann M., Schöpp W., Heyes C.: *Environ. Pollut.* 113, 59 (2001).
5. Nicholson J. P., Weston K. J., Fowler D.: *Atmos. Environ.* 35, 2009 (2001).
6. Parvulescu V. I., Grange P., Delmon B.: *Catal. Today* 46, 233 (1998).
7. Khalil M. A. K.: *Chemosphere – Global Change Sci.* 2, 233 (2000).
8. Centi G., Perathoner S., Vazzana F., Marella M., Tomaselli M., Mantegazza M.: *Adv. Environ. Res.* 4, 325 (2000).
9. Belton D. N., Taylor K. C.: *Curr. Opin. Solid State Mater.* 4, 97 (1999).
10. Olivier J. G. J., Bouwman A. F., Van der Hoek K. W., Berdowski J. J. M.: *Environ. Pollut.* 102, 135 (1998).
11. Bond D. W., Steiger S., Zhang R., Tie X., Orville R. E.: *Atmos. Environ.* 36, 1509 (2002).
12. Shelef M.: *Chem. Rev.* 95, 209 (1995).
13. Zelenka P., Cartellieri W., Herzog P.: *Appl. Catal., B* 10, 3 (1996).
14. Amann M., Lutz M.: *J. Hazard. Mater.* 78, 41 (2000).
15. Taylor K. C.: *Catal. Rev.* 35, 457 (1993).
16. Shelef M., McCabe R. W.: *Catal. Today* 62, 35 (2000).
17. Howitt C., Pitchon V., Maire G.: *J. Catal.* 154, 47 (1995).
18. Yung-Fang Yu Yao: *J. Catal.* 87, 152 (1984).
19. Beeckman J. W., Hegedus L. L.: *Ind. Eng. Chem. Res.* 30, 969 (1991).
20. Pereira C. J., Plumlee K. W.: *Catal. Today* 13, 23 (1992).
21. Iwamoto M., Hamada H.: *Catal. Today* 10, 57 (1991).
22. Wichterlová B., Sobalík Z., Skokánek M.: *Appl. Catal., B* 103, 269 (1993).
23. Sullivan J. A., Cunningham J., Morris M. A., Keneavey K.: *Appl. Catal., B* 7, 137 (1995).
24. Ma A. Z., Muhler M., Grünert W.: *Appl. Catal., B* 27, 37 (2000).
25. Iwamoto M., Furukawa H., Mine Y., Uemura F., Mikuriya S., Kagawa S.: *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 16, 1272 (1986).
26. Sato S., Yoshihiro Y., Yahiro H., Mizuno N., Iwamoto M.: *Appl. Catal., A* 70, L1 (1991).
27. Iwamoto M., Yahiro H., Tada K., Mizuno N., Mine Y., Kagawa S.: *J. Phys. Chem.* 95, 3727 (1991).
28. Winter E. R. S.: *J. Catal.* 22, 158 (1971).
29. Dědeček J., Wichterlová B.: *Phys. Chem. Chem. Phys.* 1, 629 (1999).
30. Wichterlová B., Dědeček J., Sobalík Z.: *NATO Advanced Research Workshop: In Catalysis by Unique Methal Ion Structures in Solid Matrices. From Science to Application, Praha, 4.–7. července 2000.* NATO Science Series II, Vol. 13 (Centi G., Wichterlová B., Bell A. T., ed.), str. 31. Kluwer, Dordrecht 2001.
31. Dědeček J., Bortnovsky O., Vondrová A., Wichterlová B.: *J. Catal.* 200, 160 (2001).
32. Armor J. N.: *Catal. Today* 26, 99 (1995).
33. Heck R. M.: *Catal. Today* 53, 519 (1999).
34. Iwamoto M.: *Catal. Today* 29, 29 (1996).
35. Traa Y., Burger B., Weitkamp J.: *Microporous Mesoporous Mater.* 30, 3 (1999).
36. Iwamoto M.: *Proceeding Meet. Catal. Technol. Removal of NO_x, Tokyo, leden 1990*, str.17; Iwamoto M., Yahiro M., Yuu Y., Shundo S., Mizuno N.: *Shokubai* 32, 430 (1990).
37. Held W., König A., Richter T., Puppe L.: *SAE Paper* 4 900 496 (1990).
38. Held W., König A. (Volkswagen AG): DE 3 642 018 (B01D53/36).
39. Yoshiyasu F., Hideaki M., Shiroh K., Masayuki F. (Toyota): JP 63 100 919 (B01D53/36).
40. Hamada H., Kintaichi Y., Sasaki M., Ito T., Tabata M.: *Appl. Catal., B* 75, L1 (1991).
41. Fritz A., Pitchon V.: *Appl. Catal., B* 13, 1 (1997).
42. Miyadera T.: *Appl. Catal., B* 2, 199 (1993).
43. Keshavaraja A., She X., Flytzani-Stephanopoulos M.: *Appl. Catal., B* 27, L1 (2000).
44. Obuchi A., Ohi A., Nakamura M., Ogata A., Mizuno K., Ohuchi H.: *Appl. Catal., B* 2, 71 (1993).
45. Satokawa S., Shibata J., Shimizu J., Satsuma A., Hattori T.: *Appl. Catal., B*, v tisku
46. Shimizu K., Satsuma A., Hattori T.: *Appl. Catal., B* 25, 239 (2000).
47. Breck D. W.: *Zeolite Molecular Sieves*. Wiley, New York 1974.
48. Radtke F., Köppel R. A., Baiker A.: *Catal. Today* 26, 159 (1995).
49. Kikuchi E., Yogo K.: *Catal. Today* 22, 73 (1994).
50. Lukyanov D. B., Sill G. A., d'Itri J. L., Hall W. K.: *J. Catal.* 153, 265 (1995).
51. Lukyanov D. B., Lombardo E. A., Sill G. A., d'Itri J. L., Hall W. K.: *J. Catal.* 163, 447 (1996).
52. Stakheev A. Y., Lee C. W., Park S. J., Chong P. J.: *Catal. Lett.* 38, 271 (1996).
53. Yokoyama C., Misono M.: *J. Catal.* 150, 9 (1994).

54. Lukyanov D. B., d'Itri J. L., Sill G. A., Hall W. K.: *11th Int. Congress on Catalysis*, Stud. Surf. Sci. Catal. 101 A, 651 (1996).
55. Corma A., Fornes V., Palomares E.: Appl. Catal., B 11, 233 (1997).
56. Zhou X., Zhang T., Xu Z., Lin L.: Catal. Lett. 40, 35 (1996).
57. Li Y. J., Slager T. L., Armor J. N.: J. Catal. 150, 388 (1994).
58. Maisuls S. E., Seshan K., Feast S., Lercher J.A.: Appl. Catal., B 29, 69 (2001).
59. Brandin J. G. M., Andersson L. A. H., Odenbrand C. U. I.: Catal. Today 4, 187 (1989).
60. Sobalík Z., Kubánek P., Bortnovski O., Vondrová A., Tvarůžková Z., Šponer J. E., Wichterlová B.: *International FEZA Conference, Taormina, 1.–5. září 2002*, Stud. Surf. Sci. Catal. 142 A, 533 (2002).
61. Cowan A. D., Dumpelmann R., Cant N. W.: J. Catal. 151, 356 (1995).
62. Cant N. W., Cowan A. D.: Catal. Today 35, 89 (1997).
63. Adelman B. J., Beutel T., Lei G. D., Sachtler W. M. H.: Appl. Catal., B 11, L1 (1997).
64. Witzel F., Sill G. A., Hall W. K.: J. Catal. 149, 229 (1994).
65. Beutel T., Adelman B. J., Lei G. D., Sachtler W. M. H.: Catal. Lett. 32, 83 (1995).
66. Cowan A. D., Cant N. W.: Stud. Surf. Sci. Catal. 107, 285 (1997).
67. Cant N. W., Liu I. O. Y.: Catal. Today 63, 133 (2000).
68. Ukisu Y., Sato S., Muramatsu G., Yoshida K.: Catal. Lett. 11, 177 (1991).
69. Hwang I. C., Kim D. H., Woo S. I.: Catal. Lett. 42, 177 (1996).
70. Beutel T., Adelman B., Sachtler W. M. H.: Catal. Lett. 37, 125 (1996).
71. Chen H. Y., Voskoboinikov T., Sachtler W. M. H.: J. Catal. 180, 171 (1998).
72. Lobree L. J., Aylor A. W., Reimer J. A., Bell A. T.: J. Catal. 181, 189 (1999).
73. Lombardo E. A., Sill G. A., d'Itri J. L., Hall W. K.: J. Catal. 173, 440 (1998).
74. Lobree L. J., Aylor A. W., Reimer J. A., Bell A. T.: J. Catal. 169, 188 (1997).
75. Lobree L. J., Hwang I.-C., Reimer J. A., Bell A. T.: Catal. Lett. 63, 233 (1999).
76. Vergne S., Berreghis A., Tantet J., Canaff C., Magnoux P., Davias N., Noirot R.: Appl. Catal., B 18, 37 (1998).
77. Meunier F. C., Breen J. P., Zuzaniuk V., Olsson M., Ross J. R. H.: J. Catal. 187, 493 (1999).
78. Meunier F. C., Zuzaniuk V., Breen J. P., Olsson M., Ross J. R. H.: Catal. Today 59, 287 (2000).
79. Tabata T., Kokitsu M., Ohtsuka H., Okada O., Sabatino L. M. F., Bellussi G.: Catal. Today 27, 91 (1996).
80. Ohtsuka H., Tabata T.: Appl. Catal., B 21, 133 (1999).
81. Ohtsuka H., Tabata T.: Appl. Catal., B 26, 275 (2000).
82. Ogura M., Hayashi M., Kikuchi E.: Catal. Today. 45, 139 (1998).
83. Ogura M., Kage S., Hayashi M., Matsukata M., Kikuchi E.: Appl. Catal., B 27, L213 (2000).
84. Ogura M., Hayashi M., Kage S., Matsukata M., Kikuchi E.: Appl. Catal., B 23, 247 (1999).
85. Kikuchi E., Ogura M., Aratani N., Sugiura Y., Hiromoto S., Yogo K.: Catal. Today 27, 35 (1996).
86. Yogo K., Kikuchi E.: Stud. Surf. Sci. Catal. 84 C, 1547 (1994).
87. Cho B. K.: J. Catal. 142, 418 (1993).
88. Montreuil C. N., Shelef M.: Appl. Catal., B 1, L1 (1992).
89. Chen H. Y., Voskoboinikov T., Sachtler W. M. H.: Catal. Today 54, 483 (1999).
90. Adelman B. J., Beutel T., Lei G. D., Sachtler W. M. H.: J. Catal. 158, 327 (1996).
91. Ogura M., Sugiura Y., Hayashi M., Kikuchi E.: Catal. Lett. 42, 185 (1996).
92. Torre Abreu C., Ribeiro M. F., Henriques C., Ribeiro F. R.: Appl. Catal., B 11, 383 (1997).
93. Bell V. A., Feeley J. S., Deeba M., Farrauto R. J.: Catal. Lett. 29, 15 (1994).
94. Petunchi J. O., Hall W. K.: Appl. Catal., B 3, 239 (1994).
95. Feng X. B., Hall W. K.: J. Catal. 166, 368 (1997).
96. Chen H. Y., Sachtler W. M. H.: Catal. Today 42, 73 (1998).
97. Tabata T., Kokitsu M., Okada O.: Appl. Catal., B 6, 225 (1995).
98. Ohtsuka H., Tabata T., Okada O., Sabatino L. M. F., Bellussi G.: Catal. Lett. 44, 265 (1997).
99. Ohtsuka H., Tabata T., Okada O., Sabatino L. M. F., Bellussi G.: Catal. Today 42, 45 (1998).
100. Li Y. J., Slager T. L., Armor J. N.: J. Catal. 150, 376 (1994).
101. Voskoboinikov T., Chen H. Y., Sachtler W. M. H.: Appl. Catal., B 19, 279 (1998).
102. Li Y. J., Battavio P. J., Armor J. N.: J. Catal. 142, 561 (1993).
103. Chen H. Y., Sachtler W. M. H.: Catal. Lett. 50, 125 (1998).
104. Descorme C., Gelin P., Lecuyer C., Primet M.: J. Catal. 177, 352 (1998).
105. Ohtsuka H., Tabata T., Hirano T.: Appl. Catal., B 28, L73 (2000).
106. Kaucký D., Vondrová A., Dědeček J., Wichterlová B.: J. Catal. 194, 318 (2000).
107. Dědeček J., Kaucký D., Wichterlová B.: Microporous Mesoporous Mater. 35, 483 (2000).
108. Kaucký D., Dědeček J., Wichterlová B.: Microporous Mesoporous Mater. 31, 75 (1999).
109. Dědeček J., Čapek L., Kaucký D., Sobalík Z., Wichterlová B.: J. Catal. 211, 198 (2002).
110. Dědeček J., Wichterlová B.: J. Phys. Chem. 103, 1462 (1999).
111. Tabata T., Ohtsuka H., Sabatino L. M. F., Bellussi G.: Microporous Mesoporous Mater. 21, 517 (1998).
112. Okada O., Tabata T., Kokitsu M., Ohtsuka H., Sabatino L. M. F., Bellussi G.: Appl. Surf. Sci. 121, 267 (1997).
113. Bellussi G., Sabatino L. M. F., Tabata T., Kokitsu M., Okada O., Hirofumi O. (Enitecnologie S.p.A., Osaka Gas Co. LTD): EP 732 140 (B01D53/86).
114. Bellussi G., Sabatino L. M. F., Tabata T., Kokitsu M., Okada O. (Enitecnologie S.p.A., Osaka Gas Co. LTD): EP 652 040 (B01D53/56).
115. Tabata T., Ohtsuka H., Bellussi G., Sabatino L. M. F.: *Proceeding 12th Int. Zeolite Conf.: Selective Catalytic Reduction of Nitrogen Oxides Using Hydrocarbons on Cobalt Ion-Exchanged Beta Zeolite, Baltimore, 1998* (Treacy M. N. J., Marcus B. K., Bisher M. E., Higgins

- J. B., ed.), str. 1169. Materials Research Society, Warendale 1998.
116. Bellussi G., Sabatino L. M. F., Tabata T., Kokitsu M., Okada O., Ohtsuka H. (Enitecnologie S.p.A., Osaka Gas Co. LTD): EP 739 651 (B01D53/94).
 117. Bellussi G., Sabatino L. M. F., Ohtsuka H., Tabata T., Okada O. (Enitecnologie S.p.A., Osaka Gas Co., LTD): EP 766 992 (B01D53/86).
 118. Wang X., Chen H. Y., Sachtler W. M. H.: Appl. Catal., B 26, L227 (2000).
 119. Wang X., Chen H. Y., Sachtler W. M. H.: Appl. Catal., B 29, 47 (2001).
 120. Chen H. Y., Wang X., Sachtler W. M. H.: Appl. Catal., A 194, 159 (2000).
 121. Pophal C., Yogo T., Yamada K., Segawa K.: Appl. Catal., B 16, 177 (1998).
 122. Joyner R. W., Stockenhuber M.: Catal. Lett. 45, 15 (1997).
 123. Kogel M., Sandoval V. H., Schwieger W., Tissler A., Turek T.: Catal. Lett. 51, 23 (1998).
 124. Hall W. K., Feng X. B., Dumesic J., Watwe R.: Catal. Lett. 52, 13 (1998).
 125. Kucherov A. V., Montreuil C. A., Kucherova T. N., Shelef M.: Catal. Lett. 56, 173 (1998).
 126. Kogel M., Monning R., Schwieger W., Turek T.: J. Catal. 182, 470 (1999).
 127. Chen H. Y., El-Malki E. M., Wang X., van Santen R. A., Sachtler W. M. H.: J. Mol. Catal., A 162, 159 (2000).
 128. Marturano P., Drozdová L., Kogelbauer A., Prins R.: J. Catal. 192, 236 (2000).
 129. Battiston A. A., Bitter J. H., Koningsberger D. C.: Catal. Lett. 66, 75 (2000).
 130. Amiridis M. D., Roberts K., Pereira C. J.: Appl. Catal., B 14, 203 (1997).
 131. Garcia-Cortes J. M., Perez-Ramirez J., Illan-Gomez M. J., Kapteijn F., Moulijn J. A., de Lecea G. S. M.: Appl. Catal., B 30, 339 (2001).
 132. Perez-Ramirez J., Garcia-Cortes J. M., Kapteijn F., Mul G., Moulijn J. A., de Lecea C. S. M.: Appl. Catal., B 29, 285 (2001).
 133. Iwamoto M., Yahiro H., Shin H. K., Watanabe M., Guo J., Konno M., Chikahisa T., Murayama T.: Appl. Catal., B 5, L1 (1994).
 134. Shin H. K., Hirabayashi H., Yahiro H., Watanabe M., Iwamoto M.: Catal. Today 26, 13 (1995).
 135. Denton P., Giroir-Fendler A., Schuurmar Y., Praliaud H., Mirodatos C., Primet M.: Appl. Catal., A 220, 141 (2001).
 136. Loughran C. J., Resasco D. E.: Appl. Catal., B 7, 113 (1995).
 137. Shimizu K., Okada F., Nakamura Y., Satsuma A., Hattori T.: J. Catal. 195, 151 (2000).
 138. Kato H., Yokoyama C., Misono M.: Catal. Today 45, 93 (1998).
 139. Adelman B. J., Sachtler W. M. H.: Appl. Catal., B 14, 1 (1997).
 140. Ali A., Alvarez W., Loughran C. J., Resasco D. E.: Appl. Catal., B 14, 13 (1997).
 141. Gelin P., Goguet A., Descorme C., Lecuyer C., Primet M.: Stud. Surf. Sci. Catal. 116, 275 (1998).
 142. Wen B., Sun Q., Sachtler W. M. H.: J. Catal. 204, 314 (2001).
 143. Descorme C., Gelin P., Lécuyer C., Primet M.: Appl. Catal., B 13, 185 (1997).
 144. Cordoba L. F., Flytzani-Stephanopoulos M., de Correa C. M.: Appl. Catal., B 33, 25 (2001).
 145. Misono M., Nishizaka Y., Kawamoto M., Kato H.: Stud. Surf. Sci. Catal. 105 B, 1501 (1997).
 146. Koyano G., Yokoyama S., Misono M.: Appl. Catal., A 188, 301 (1999).
 147. Aylor A. W., Lobree L. J., Reimer J. A., Bell A. T.: J. Catal. 172, 453 (1997).
 148. Ogura M., Hiromoto S., Kikuchi E.: Chem. Lett. 1995, 1135.
 149. Ogura M., Hayashi M., Kikuchi E.: Catal. Today 42, 159 (1998).
 150. Ogura M., Kikuchi E.: Chem. Lett. 1996, 1017.
 151. Torre Abreu C., Ribeiro M. F., Henriques C., Ribeiro F. R.: Catal. Lett. 43, 31 (1997).
 152. Torre Abreu C., Ribeiro M. F., Henriques C., Ribeiro F. R.: Catal. Lett. 43, 25 (1997).
 153. Chung S. Y., Oh S. H., Kim M. H., Nam I. S., Kim Y. G.: Catal. Today 54, 521 (1999).
 154. Budi P., Curry Hyde E., Howe R. F.: Catal. Lett. 41, 47 (1996).
 155. Yan J. Y., Sachtler W. M. H., Kung H. H.: Catal. Today 33, 279 (1997).
 156. Rokosz M. J., Kucherov A. V., Jen H. W., Shelef M.: Catal. Today 35, 65 (1997).

L. Čapek and B. Wichterlová (*Institute of Physical Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*): **Selective Catalytic Reduction of NO_x with Hydrocarbons on Zeolite Catalysts**

Selective catalytic reduction of NO_x with hydrocarbons over metal zeolite catalysts, which is a new method for the NO_x emission control in atmosphere, has been described. Main attention is given to the progress in the development of the metal zeolite catalysts active in the presence of water vapor like in real exhaust gases. General aspects and mechanism of the reaction are also described. High and stable activity in the selective catalytic reduction under real conditions of exhaust gases is shown only by the Co-BEA catalyst developed by the ENI and Osaka Gas companies. Although Fe and Pt zeolites also show high activity in exhaust gases, they produce high concentrations of undesirable CO and N₂O. Nevertheless, due to the complexity of the reduction of NO with hydrocarbons to nitrogen, the structure and function of the active sites in metal zeolites are not completely resolved and require further studies.

NOMENKLATURA A TERMINOLOGIE

DOPORUČENÍ IUPAC Terminology in Soil Sampling

The need to be understood is the first objective of writers and speakers, be a poet or a scientist. But there is difference: the scientist must be sure that, within a stated context, the terms used in articles, publications or in the daily conversation among colleagues, are intended by all in the same precise way, without any possible ambiguity. As already pointed out by IUPAC recommendation 1990 "Nomenclature for Sampling in Analytical Chemistry", it is not acceptable that scientists are not able to orient themselves in a sampling or analytical process. This can occur if the terms used are not well defined. Moreover, to better appreciate the development of new theories or concepts, progressive update can be necessary. To this end, on the basis of the existing terminology documents and of the most recent knowledge in the field of soil sampling, an updated terminology in sampling (specifically soil sampling) is recommended.

Otiskujeme synopsi názvoslovného návrhu z oboru analýzy půd, který byl připraven divizí IUPAC pro analytickou chemii. Návrh je nyní určen k posouzení a kritice chemické veřejnosti. Zájemci o bližší

informace či o texty návrhů se mohou obrátit na adresu Národního střediska IUPAC v České republice:

Ing. Jaroslav Kahovec, CSc.
Ústav makromolekulární chemie AV ČR
Heyrovského nám. 2
162 06 Praha 6
tel. 296 809 322, fax 296 809 410, e-mail: kah@imc.cas.cz

Návrh je též vystaven na webové stránce IUPAC na adrese
http://www.iupac.org/reports/provisional/abstract03/fajgelj_301103.html

Připomínky k návrhu je třeba zaslat do 30. listopadu 2003 na adresu:

Dr. Ales Fajgelj
International Atomic Energy Agency
Agency's Laboratories Seibersdorf
Wagramer Strasse 5
A-1400 Seibersdorf, Austria
tel. +[43] 1 2600 28233
fax +[43] 1 2600 282221
e-mail: a.fajgelj@iaea.org

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

STRIPPING VOLTAMPÉROMETRICKÉ STANOVENIE ANORGANICKÝCH FORIEM ANTIMÓNU V PRÍRODNÝCH VODÁCH

DARINA RÚRIKOVÁ a LENKA DZIAČKOVÁ

Katedra analytickej chémie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Mlynská dolina, 842 15 Bratislava, Slovenská republika

e-mail: darina.rurikova@fns.uniba.sk

Došlo 16.11.02, prepracované 12.5.03, prijaté 29.5.03.

Kľúčové slová: stripping voltampérometria, antimón

Úvod

Antimón je kumulatívny toxický prvok, ktorý sa v životnom prostredí väčšinou vyskytuje vo veľmi nízkych koncentráciách. Koncentrácia celkového Sb vo väčšine prírodných vôd sa pohybuje v rozmedzí 0,01–5 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, ale v priemyselných oblastiach a sopečných zónach jeho koncentrácia môže byť výrazne vyššia. Napriek toxicite Sb jeho monitorovanie v environmentálnych systémoch donedávna nebolo bežné. Antimón sa nachádza v prírodných vodách v rôznych chemických formách: v anorganickej ako zlúčeniny Sb(III) a Sb(V) a v organickej forme ako rôzne metylderiváty Sb^I. Obsahy metyl zlúčenín Sb sú na veľmi nízkej koncentračnej úrovni (<0,01 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$), preto špeciálna analýza je spojená hlavne s diferenciáciou anorganických foriem Sb(III) a Sb(V).

Nízky obsah Sb vo vodách vyžaduje vysokú citlivosť analytických metód, využívaných na jeho stanovenie. Prehľad metód na stanovenie a špeciáciu Sb vo vodách je zhrnutý v prácach^{2,3}. Toxické vlastnosti rôznych foriem Sb sa líšia, toxicita Sb(III) je asi 10× vyššia ako toxicita Sb(V). Preto analytický postup musí byť schopný stanoviť nielen celkový Sb na úrovni $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, ale aj rôzne formy Sb, ktoré sa vyskytujú v environmente. Tieto podmienky spĺňajú metódy elektrochemickej rozpúšťacej analýzy. Sb je najčastejšie nahromadený elektrochemickou redukciou na visiacej ortufovej kvapkovej elektróde (HMDE)^{4–8}, Hg filmovej^{9–11}, Au¹² a Au filmovej elektróde^{13,14}. Vylúčený kov sa potom rozpúšťa späť do roztoku polarizáciou elektródy ku pozitívnejším potenciálom za voltampérometrickej kontroly^{4–10}, galvanostaticky konštantným prúdom¹² alebo chemickou oxidáciou^{11,13,14}. Inou alternatívou je nahromadenie Sb chemickou interakciou s modifikovaným povrchom pracovnej elektródy. Khoo a Zhu testovali elektródu zo sklovitého uhlíka modifikovanú pyrogalolom¹⁵. Po selektívnom nahromadení stanovili Sb(III) metódou diferenčne pulzovej anodickej stripping voltampérometrie (DPASV).

Antimón môže byť stanovený aj adsorptívnou stripping voltampérometriou (AdSV). Viaceré komplexotvorné činidlá boli navrhnuté na tento účel. Capodaglio a spol.¹⁶ využili na stanovenie celkového Sb vo vodách jeho akumuláciu vo forme komplexov s pyrokatecholom. Podľa autorov Sb(III) a Sb(V) môžu byť stanovené s rovnakou citlivosťou. Wagner a spol.¹⁷ navrhli 2,5-dichlor-3,6-dihydroxy-1,4-benzochinón (kyselinu chloranilovú, CAA) ako komplexotvorné činidlo na špeciáciu Sb v morskej vode. Obsah Sb(III) stanovili v $1\cdot 10^{-3}$ $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ HCl priamo a celkový Sb po oxidácii Sb(III) (UV resp. mikrovlnovou digesciou) ako Sb(V) pri pH 1. Špeciáciu dosiahli vhodnou voľbou prostredia a potenciálu depozície.

Cieľom predloženej práce bolo porovnať voltampérometrické techniky líšiace sa v spôsobe nahromaďovania analytu (vo forme amalgámu a komplexov s pyrokatecholom a CAA) z hľadiska stanovenia a špeciácie anorganických foriem Sb vo vzorkách prírodných vôd.

Experimentálna časť

Prístroje a zariadenia

Na voltampérometrické merania sme využili polarografický analyzátor PA 4 s X–Y zapisovačom 4103 a statickou ortufovou kvapkovou elektródou SMDE 1 v móde HMDE (Laboratorní přístroje, Praha). Referenčnou elektródou bola Ag/AgCl elektróda (1 $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ KCl) a pomocnou Pt elektróda. Parametre merania: veľkosť kvapky 160 ms, doba depozície 40–480 s, amplitúda pulzu –50 mV, citlivosť 5–10 $\text{nA}\cdot\text{cm}^{-1}$, rýchlosť polarizácie 10 $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$ pre ASV a 50 $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$ pre AdSV, časová konštanta pamäti 100 ms. Rozpúšťací krok sa sledoval fast scan diferenčne pulzovou technikou.

Merania pH sa uskutočnili na pH metri MS 11 (Laboratorní přístroje, Praha) s kombinovanou elektródou sklená-argentochloridová OP 0808 P (Radelkis, Budapešť).

Chemikálie a roztoky

HCl (Lachema) bola čistená izotermickou destiláciou. Pyrokatechol (Lachema) bol čistený rekryštalizáciou. Fulvénové kyseliny boli izolované z rašeliny extrakčným činidlom 0,01 $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, pH 7. Humínové kyseliny boli referenčný materiál Fluka (M_r 500–1000). Ostatné chemikálie boli čistoty p.a. (Merck, Lachema, Sigma) a neboli ďalej čistené. Voda bola deionizovaná a ďalej čistená v Labconco Water Pro PS systéme.

Štandardný roztok Sb(III) $4\cdot 10^{-3}$ $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ sa pripravil rozpustením 0,1166 g Sb_2O_3 v 18 ml koncentrovanej HCl a zriedením na objem 100 ml. Zásobným roztokom Sb(V) bol referenčný materiál 10–2–10 s obsahom Sb 1,000 $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (SMÚ, Bratislava). Štandardné roztoky Sb nižších koncentrácií ($2\cdot 10^{-6}$ a $4\cdot 10^{-6}$ $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ Sb(III) a 1 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ Sb(V)) sa pripravili pred každou analýzou zriedením zásobných roztokov. Roztoky pyrokatecholu (0,1 $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$) a kyseliny chloranilovej (CAA) ($5\cdot 10^{-3}$ $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$) sa pripravovali denne.

Syntetická voda so známym obsahom Sb a niektorých interferentov sa použila ako modelová vzorka. Jej zloženie bolo: 0,294 g.l⁻¹ CaCl₂ · 2 H₂O, 0,216 g.l⁻¹ NaCl, 0,086 g.l⁻¹ MgSO₄ · 7 H₂O, 9,5 mg.l⁻¹ KCl, 7,3 mg.l⁻¹ (NH₄)₂HPO₄.

V z o r k y

Analyzované vzorky boli podzemné vody z oblasti stredného Slovenska, dodané Výskumným ústavom vodného hospodárstva v Bratislave.

Pracovné postupy

Redukcia Sb(V) na Sb(III)

Modelové alebo reálne vzorky vôd (2–7 ml) sa zmiešali s koncentrovanou HCl v 25 ml skúmavke tak, aby výsledná koncentrácia HCl v tomto roztoku bola 1 mol.l⁻¹. Po pridaní kyseliny askorbovej (4 mg.ml⁻¹) sa skúmavka ponorila do vriaceho vodného kúpeľa na 5 minút. Po vychladnutí sa vzorka zriedila na objem 10 ml a analyzovala.

Stanovenie Sb metódou ASV

Pri stanovení Sb(III) sa do polarografickej nádoby odpipetovalo 1–10 ml modelovej resp. reálnej vzorky. Po zriedení na objem 10 ml sa pridala koncentrovaná HCl v takom množstve, aby jej výsledná koncentrácia bola 1 mol.l⁻¹.

Obsah Sb(V) a celkového Sb sa stanovili po redukcii Sb(V) na Sb(III). Na jedno stanovenie sa pipetovalo 1–3 ml zredukovanej vzorky, ktorá sa zriedila 1 mol.l⁻¹ HCl na objem 10 ml.

Po odvzdušnení vzorky sa Sb(III) akumuloval pri potenciáli –0,2 V. Rozpúšťací pík Sb sa zaregistroval za podmienok predtým uvedených v rozsahu potenciálov –0,2 až –0,03 V na základe oxidácie nahromadeného kovu. Na stanovenie Sb sa použila metóda štandardných prídavkov, realizovaná tromi prídavkami (20–50 µl) 2.10⁻⁶ resp. 4.10⁻⁶ mol.l⁻¹ Sb(III).

Stanovenie Sb metódou AdSV s využitím komplexu Sb(III)–pyrokatechol

Do mernej nádoby sa odpipetovalo 1–10 ml modelovej alebo reálnej vzorky. Po zriedení na objem 10 ml sa pridal 1 ml tlmivého roztoku CH₃COOH–CH₃COONa o pH 5,5, 0,2 ml 0,025 mol.l⁻¹ EDTA a obsah Sb(III) sa stanovil podľa postupu ďalej uvedeného.

Pri stanovení Sb(V) v modelových vzorkách a celkového Sb v reálnych vzorkách sa Sb(V) zredukoval kyselinou askorbovou a na jedno stanovenie sa pipetovalo 1–3 ml upravenej vzorky. K roztoku sa pridalo 0,2 ml 0,025 mol.l⁻¹ EDTA, pH sa upravilo zriedeným roztokom NH₃ na hodnotu 5,5 a roztok sa zriedil na objem 10 ml.

Po odvzdušnení sa do meraného roztoku pridalo 100 µl 0,1 mol.l⁻¹ pyrokatecholu. Na stanovenie Sb(III) sa využila metóda diferenčnej pulzovej voltampérometrie (DPV) v obohatenom roztoku. Sb(III) sa akumuloval vo forme amalgámu pri potenciáli –1,0 V. Po skokovej zmene potenciálu z –1,0 na –0,1 V sa po 20 s zaregistroval rozpúšťací pík Sb(III) v rozsahu potenciálov –0,1 až –1,0 V na základe redukcie naadsorbovaného komplexu. Kvantifikácia Sb sa uskutočnila metódou

štandardných prídavkov, realizovanou tromi štandardnými prídavkami (10–50 µl) 2.10⁻⁶–4.10⁻⁶ mol.l⁻¹ Sb(III).

Stanovenie Sb metódou AdSV s využitím komplexu Sb(III)–CAA

Pri stanovení Sb(III) sa do mernej nádoby odpipetovalo 1–10 ml modelovej alebo reálnej vzorky. Po zriedení na objem 10 ml a úprave roztoku zriedenou HCl na pH 3 sa pridalo 0,1 ml 5.10⁻³ mol.l⁻¹ CAA. V odvzdušnenom roztoku sa Sb(III) nahromaďoval na HMDE adsorpciou vo forme komplexu s CAA pri potenciáli –0,15 V. Rozpúšťací pík Sb(III) sa zaznamenal v rozsahu potenciálov –0,15 až –0,7 V na základe redukcie naadsorbovaného komplexu. Sb(III) sa stanovil metódou štandardných prídavkov.

Pri stanovení Sb(V) v modelovej vzorke a celkového Sb v reálnej vzorke sa do mernej nádoby pipetovalo 1–3 ml zredukovanej vzorky. pH vzorky sa upravilo na hodnotu 3 zriedeným roztokom NH₃ a po zriedení na objem 10 ml a pridaní 0,1 ml 5.10⁻³ mol.l⁻¹ CAA sa uskutočnilo stanovenie Sb(III).

Výsledky a diskusia

Anodická stripping voltampérometria

Najvhodnejším základným elektrolytom na stanovenie Sb metódou ASV je prostredie HCl. Obe redoxné formy Sb sa líšia svojimi elektrochemickými vlastnosťami. Sb(III) dáva signál v širokom koncentračnom rozmedzí tejto kyseliny. Najvyšší, prakticky sa nemeniaci signál dáva v prostredí 0,1–2 mol.l⁻¹ HCl. Koncentrácia HCl ovplyvňuje aj šírku a potenciál píku. So vzrastajúcou koncentráciou HCl sa znižuje šírka píku a potenciál píku sa posúva k negatívnejším hodnotám. Závislosť $I_p = f(t_d)$ je lineárna v testovanom rozsahu 40–840 s, čo je výhodné najmä pre stanovenie veľmi nízkych obsahov Sb(III).

Sb(V) je vo väčšine základných elektrolytov inaktívny, redukuje sa až v silne kyslom prostredí. Signál Sb(V) sa objavuje až pri $c(\text{HCl}) > 1 \text{ mol.l}^{-1}$, maximálnu hodnotu dosahuje pri $c(\text{HCl}) = 3 \text{ mol.l}^{-1}$ a potom opäť klesá. Z tohto rozdielneho elektrochemického chovania Sb(III) a Sb(V) vyplýva, že vhodnou voľbou acidity prostredia je možné obe formy rozlíšiť. Pri $c(\text{HCl}) \leq 1 \text{ mol.l}^{-1}$ len Sb(III) sa redukuje na Sb(0) a rozpúšťací signál v tomto prostredí je úmerný koncentrácii Sb(III). Pri vyšších koncentráciách HCl sú elektroaktívne obe formy. Pretože smernice kalibračných kriviek Sb(III) a Sb(V) sú rozdielne (smernica Sb(III) v 3 mol.l⁻¹ HCl je dvojnásobkom smernice Sb(V)), celkový Sb sa dá stanoviť po premene Sb na jednu formu, buď redukciou na Sb(III) alebo oxidáciou na Sb(V). Citlivosť stanovenia Sb vo forme Sb(III) je niekoľkonásobne vyššia, preto v našej práci pri stanovení celkového Sb sme preferovali redukčnú predúpravu vzorky.

Linearita kalibračnej závislosti Sb(III) bola testovaná pre $t_d = 40\text{--}360 \text{ s}$ v koncentračnom rozmedzí 0–10 µg.l⁻¹. V prostredí 1 mol.l⁻¹ HCl za podmienok uvedených v experimentálnej časti závislosť $I_p = f(c(\text{Sb}))$ pre časy depozície 40 s a 120 s bola lineárna v celom testovanom rozsahu, pre časy depozície 240 s a 360 s v intervale 0–8 µg.l⁻¹. Lineárne časti týchto závislostí s korelačnými koeficientmi 0,9990–0,9997 sú cha-

rakterizované citlivosťami: 3,5; 8,7; 17,4; 24,8 nA.l.μg⁻¹. Detekčný limit pre Sb(III) sa zmenil z 0,3 μg.l⁻¹ pre 40 s depozíciu na 0,05 μg.l⁻¹ pre 360 s depozíciu.

Adsorptívna stripping voltampérometria

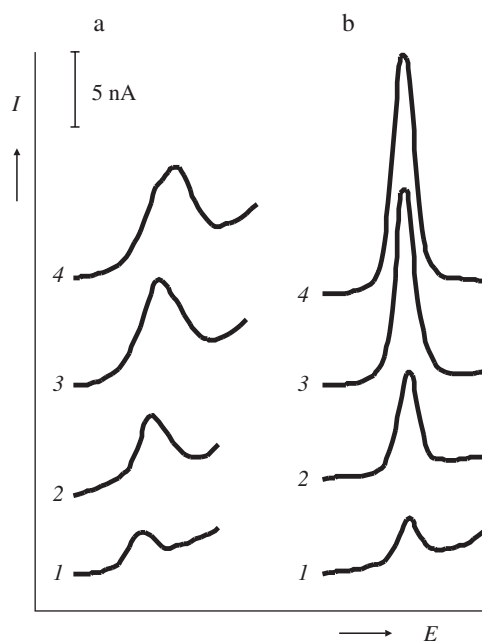
Na stanovenie Sb sme využili aj akumuláciu Sb adsorpciou vo forme komplexov s komplexotvornými činidlami pyrokatechol a kyselina chloranilová.

Optimalizácia experimentálnych podmienok (koncentrácia pyrokatecholu, pH, E_d , rýchlosť polarizácie) pre stanovenie Sb(III) metódou AdSV na základe komplexu s pyrokatecholom bola prezentovaná v práci¹⁹. Adsorpcia komplexu Sb(III)–pyrokatechol na HMDE je kontrolovaná koncentráciou pyrokatecholu a hodnotou pH. Komplex sa vytvára pri pH > 3 a v intervale pH 4–6,5 sa signál prakticky nemení. Optimálna koncentrácia pyrokatecholu bola $5 \cdot 10^{-4}$ – $1 \cdot 10^{-3}$ mol.l⁻¹, kedy sa dosiahol maximálny signál.

AdSV môže byť realizovaná technikou katodickej stripping voltampérometrie (CSV) a DPV v elektrochemicky obohatenom roztoku. Ako vidieť z obr. 1 technika DPV v obohatenom roztoku je vhodnejšia najmä pre stanovenia veľmi nízkych koncentrácií Sb(III) a preto sa aplikovala vo všetkých ďalších meraniach. Princíp tejto metódy je nasledujúci: Sb(III) sa najprv nahromadí elektroredukciou vo forme amalgámu pri $E_d = -1,0$ V. Po skokovej zmene potenciálu na $-0,1$ V anodickým rozpúšťaním Sb(0) $\xrightarrow{-3e}$ Sb(III) dôjde k obohateniu roztoku v blízkom okolí Hg kvapky Sb(III) a súčasne k naadsorbovaniu komplexu Sb(III)–pyrokatechol. Následným katodickým strippovaním v dôsledku redukcie centrálneho atómu naadsorbovaného komplexu vznikne prúdový signál, ktorý sa využíva na kvantifikáciu Sb(III). Potenciál píku je funkciou pH a polarizačnej rýchlosti. So vzrastajúcim pH a polarizačnou rýchlosťou sa posúva k negatívnejším hodnotám. Pri polarizačnej rýchlosti 50 mV.s⁻¹ zmena pH z 5 na 6 spôsobí posun E_p z $-0,58$ V na $-0,64$ V. Závislosť E_p vs. pH je medzi pH 3,5 až 7,0 lineárna so smernicou 60,2 mV/pH čo potvrdzuje účasť protónov na redukcii akumulovaného komplexu Sb(III)–pyrokatechol. Polarizačná rýchlosť výrazne ovplyvňuje aj výšku píku Sb(III). Najvyšší nedeformovaný signál sa získal pri polarizačnej rýchlosti 50 mV.s⁻¹. Pri nízkych koncentráciách Sb(III) (<6 μg.l⁻¹) sa výška píku zvyšovala lineárne s depozičným časom do $t_d = 240$ s. Závislosť $I_p = f(t_d)$ pri vyšších koncentráciách bola nelineárna a dosiahla plató pri 240–360 s.

Za podmienok uvedených v experimentálnej časti linearita závislosti $I_p = f(c(\text{Sb}))$ sa testovala štandardnými prídavkami Sb(III) do základného elektrolytu v koncentračnom rozsahu 0–10 μg.l⁻¹. Pre 40 s depozíciu závislosť bola lineárna v celom testovanom rozsahu, pre čas depozície 120 s a 240 s v intervale 0–7 μg.l⁻¹. Lineárne časti týchto závislostí sú charakterizované citlivosťami: 3,6; 7,2; a 12,0 nA.l.μg⁻¹ (korelačné koeficienty 0,9991, 0,9996 a 0,9995). Detekčné limity sú 0,3 μg.l⁻¹ pre 40 s depozíciu a 0,15 μg.l⁻¹ pre 240 s depozíciu.

Z našich štúdií v protirečení s literatúrou¹⁶ vyplýva, že pri AdSV stanovení Sb na základe komplexu s pyrokatecholom len Sb(III) je elektroaktívnou formou Sb, čo umožňuje rozlíšiť obe redoxné formy Sb. Sb(V) neposkytuje žiadny signál, potvrdzujú to aj výsledky stanovení Sb(III) za prítomnosti Sb(V) v modelových vzorkách (tabuľka I). V analyzovaných vzorkách sa koncentrácia Sb(III) stanovila priamo. Koncen-



Obr. 1. Voltampérogramy Sb(III) zaznamenané DPCSV (a) a DPV (b) v obohatenom roztoku pri rôznych časoch depozície; $c(\text{Sb}) = 2,4 \mu\text{g.l}^{-1}$; $E_d = -0,2$ V pre DPCSV; 1, 2, 3 a 4 – čas depozície 40, 120, 240 a 360 s

Tabuľka I

Výsledky stanovenia Sb v modelových vzorkách metódou AdSV na základe komplexu s pyrokatecholom

Koncentrácia ^a Sb [μg.l ⁻¹]				$s_{\bar{x}}$ ^a [%]
pripravená		stanovená		
Sb(III)	Sb(V)	Sb(III)	Sb(V)	
5,5	13,9	5,3±0,4	–	2,7
5,5	20,8	5,4±0,2	–	1,3
4,9	–	4,8±0,7	–	5,7
2,8	100,0	2,9±0,2	–	2,1
2,4	–	2,4±0,2	–	3,1
1,4	5,6	1,3±0,1	–	3,4
0,46	–	0,42±0,04	–	5,4
0,46	0,46	0,44±0,03	–	2,4
–	14,8	–	13,9±0,7	2,2
–	5,6	–	5,6±0,6	4,3
–	4,6	–	4,5±0,3	3,6
–	2,3	–	2,2±0,1	2,3
2,9 ^b	–	2,8±0,2	–	2,5
2,9 ^c	–	2,8±0,2	–	2,9

^a Pre $n = 6$ – 10 , ^b $c(\text{Cu}) = 153 \mu\text{g.l}^{-1}$, ^c $c(\text{Cu}) = 1271 \mu\text{g.l}^{-1}$

trácia Sb(V) sa určí odčítaním koncentrácie Sb(III) od celkovej koncentrácie Sb stanovenej po redukcii Sb(V) na Sb(III). Pri použití kyseliny chloranilovej ako komplexotvorného činidla AdSV signál poskytujú obe redoxné formy Sb. Hlavné chemické parametre, ktoré ovplyvňujú adsorpciu komplexov

sú koncentrácia CAA a pH. Vplyv pH a E_d na výšku píku Sb(III) pri konštantnej koncentrácii CAA sú znázornené na obr. 2. Z tejto závislosti vyplýva, že optimálne prostredie pre tvorbu komplexu Sb(III)–CAA je pH 3 a najvyšší signál sa získa pri $E_d = 0$ až $-0,2$ V. Závislosť výšky píku od meniacej sa koncentrácie CAA pri pH 3 dosahuje plató pri koncentrácii $5 \cdot 10^{-5}$ mol.l⁻¹, ktorá umožňuje stanoviť Sb(III) s maximálnou citlivosťou. S rastúcim pH a rýchlosťou polarizácie sa E_p posúva katodicky. Závislosť E_p vs. pH pri polarizačnej rýchlosti 50 mV.s⁻¹ je lineárna so smernicou 71 mV/pH v intervale pH 2–5. Polarizačná rýchlosť výrazne ovplyvňuje aj výšku píku Sb(III). Najvyšší nedeformovaný signál sa získal pri polarizačnej rýchlosti 50 mV.s⁻¹.

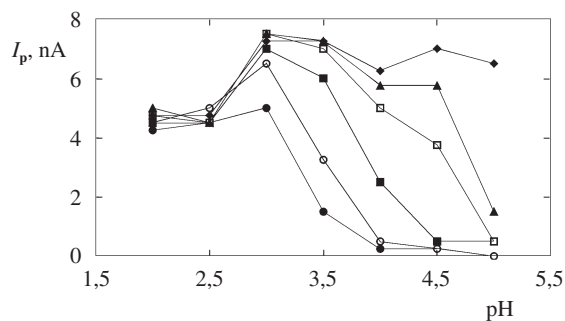
Závislosť výšky píku od času depozície sa sledovala v intervale $t_d = 40$ –480 s. Signál Sb(III) pri $c = 4,9$ µg.l⁻¹ dosiahol maximálnu hodnotu pri $t_d = 240$ s, potom klesal. Zvýšenie času depozície zo 120 s na 240 s spôsobilo len malý nárast píku, preto pre väčšinu stanovení sa využil čas depozície 120 s.

Za optimálnych podmienok uvedených v experimentálnej časti sa testovala linearita závislosti $I_p = (c(\text{Sb}))$ štandardnými prídavkami Sb(III) do základného elektrolytu o pH 3 v koncentračnom rozsahu 0–10 µg.l⁻¹. Kalibračné závislosti boli namerané pre tri časy depozície: 40; 120 a 240 s. Lineárne časti týchto závislostí sú charakterizované citlivosťami: 7,5; 17,6 a 18,9 nA.l.µg⁻¹ (korelačné koeficienty 0,9995, 0,9987, 0,9992). So zvyšujúcim sa časom depozície klesá koncentračný interval, v ktorom je kalibračná závislosť lineárna. Pri $t_d = 40$ s je lineárna v celom testovanom rozsahu. Pri $t_d = 120$ a 240 s k zakriveniu tejto závislosti dochádza nad koncentraciami 4,0 µg.l⁻¹ resp. 2,0 µg.l⁻¹. Detekčné limity sú 0,2 µg.l⁻¹ pre 40 s a 0,05 µg.l⁻¹ pre 240 s depozíciu.

Optimálne prostredie pre stanovenie Sb(V) na základe komplexu Sb(V)–CAA je $2 \cdot 10^{-2}$ – $4 \cdot 10^{-2}$ mol.l⁻¹ HCl. Pri pH 1, ktoré odporúčajú autori práce¹⁷, sa píky Sb(V) a Cu(II) prekrývajú a výsledky stanovení sú ovplyvnené prítomnosťou Cu(II). Na stanovenie Sb(V) je vhodnejšia DPV v obohatenom roztoku. Sb(V) sa nahromaďuje pri $E_d = -0,5$ V a rozpúšťanie sa sleduje v intervale $-0,04$ až $-0,5$ V. AdSV signál Sb(V) je silne ovplyvnený prítomnosťou Sb(III). Potenciály píkov Sb(III) a Sb(V) sa len veľmi málo líšia a pík Sb(III) je 4× vyšší ako pík Sb(V) pri tej istej koncentrácii. Preto ani pri tejto metóde nie je možné stanoviť Sb(V) priamo, ale len z rozdielu koncentrácií celkového Sb a Sb(III). Celkový Sb je možné stanoviť po redukčnej alebo oxidačnej predúprave ako Sb(III) alebo Sb(V). Nevýhodou stanovenia celkového Sb na základe signálu Sb(V) je časová závislosť signálu, vyšší detekčný limit, interferencia Cu(II). Preto celkový Sb v analyzovaných vzorkách sme stanovili po chemickej redukcii ako Sb(III) tak ako pri predchádzajúcich voltampérometrických technikách.

Analýza modelových vzoriek

Správnosť a presnosť stanovenia anorganických foriem Sb sa testovala analýzou modelových vzoriek s rôznou koncentraciou Sb(III) a Sb(V), pretože referenčné materiály s certifikovanými hodnotami Sb(III) a Sb(V) neboli dostupné. Ako modelový vzorku sme použili umelú riečnu vodu, pripravenú podľa práce¹⁸ s koncentraciou Sb v rozmedzí 0,5–25 µg.l⁻¹. Dosiagnuté výsledky analýz modelových vzoriek zhrnuté v tabuľkách I–III sú v dobrej zhode s očakávanými hodnotami. Sb(III) sa stanovil priamo, Sb(V) resp. celkový Sb po trans-



Obr. 2. Závislosť výšky píku Sb(III) od pH pre AdSV pri rôznych potenciáloch depozície; $c(\text{Sb}) = 2,4$ µg.l⁻¹; $c(\text{CAA}) = 5 \cdot 10^{-5}$ mol.l⁻¹; čas depozície 120 s; potenciál depozície: 0,15 (●); 0,1 (○); 0 (■); -0,1 (□); -0,15 (▲); -0,2 (◆) V

formácii Sb(V) na Sb(III) chemickou redukciou. Z viacerých redukčných činidiel bola vybraná kyselina askorbová. Pri voľbe experimentálnych podmienok sme vychádzali z práce⁵. Účinnosť redukcii závisí od viacerých faktorov: acidity prostredia, koncentrácie redukčného činidla, teploty a času. Množstvo kyseliny askorbovej, potrebné na úplnú redukcii, závisí od koncentrácie HCl. V zriedenejších roztokoch HCl koncentrácia redukčného činidla musí byť vyššia. V prostredí 1 mol.l⁻¹ HCl pri koncentrácii kyseliny askorbovej $c \geq 2$ mg.ml⁻¹ a teplote 100 °C sa kvantitatívna redukcii dosiahla v priebehu 5 min. Výťažky redukcii 25–400 ng Sb(V) sa pohybovali v rozmedzí 91,3–106,0 %.

Tabuľka II

Výsledky stanovenia Sb v modelových vzorkách metódou ASV

Koncentrácia ^a Sb [µg.l ⁻¹]		$s_{\bar{x}}$ ^a [%]		$c(\text{FK})$ ^b [mg.l ⁻¹]	
prípravená	stanovená	Sb(III)	Sb(V)	Sb(III)	Sb(V)
Sb(III)	Sb(V)	Sb(III)	Sb(V)	Sb(III)	Sb(V)
4,3	–	3,9±0,4	–	4,2	–
2,1	–	2,1±0,3	–	5,1	–
1,0	–	1,0±0,2	–	6,9	–
0,65	–	0,7±0,08	–	5,0	–
0,1	–	0,11±0,03	–	9,2	–
4,3	–	4,7±0,7	–	5,4	2,1
4,3	–	4,5±0,6	–	4,4	5,3
4,3	–	3,4±0,5	–	5,3	10,6
4,9 ^c	–	4,7±0,2	–	1,5	–
4,9 ^d	–	4,5±0,2	–	1,4	–
–	25	–	22,9±1,4	–	2,2
–	10	–	9,8±1,0	–	4,3
–	5	–	4,9±0,5	–	4,3
–	1	–	1,2±0,1	–	3,5
4,9	0,5	4,7±0,5	–	4,4	–
0,5	15,0	0,55±0,04	–	2,4	–
0,5	100,0	0,59±0,03	–	1,5	–

^aPre $n = 5$ –8, ^bFK – fulvokyseliny, ^c $c(\text{Cu}) = 25,4$ µg.l⁻¹, ^d $c(\text{Cu}) = 127,1$ µg.l⁻¹

Tabuľka III

Výsledky stanovenia Sb v modelových vzorkách metódou AdSV na základe komplexu s CAA

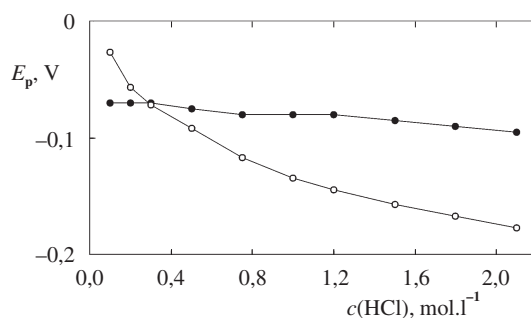
Koncentrácia ^a Sb [$\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$]				$s_{\bar{x}}$ ^a [%]
pripravená		stanovená		
Sb(III)	Sb(V)	Sb(III)	Sb(V)	
4,9	–	4,9±0,3	–	2,9
1,95	–	1,80±0,19	–	4,4
0,97	–	0,94±0,06	–	2,5
0,49	–	0,5±0,03	–	2,4
0,24	–	0,23±0,03	–	5,9
1,95 ^b	–	1,95±0,10	–	2,0
1,95 ^c	–	1,91±0,04	–	0,9
1,95	20,0	1,98±0,14	–	2,8
1,95	100,0	2,06±0,13	–	2,6
1,95	195,0	2,82±0,1	–	2,8
–	25,0	–	25,2±1,8	2,8
–	10,0	–	9,7±0,6	2,4
–	5,0	–	5,0±0,2	1,6

^a Pre $n = 6-8$, ^b $c(\text{Cu}) = 104,4 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, ^c $c(\text{Cu}) = 978,5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$

Z prezentovaných výsledkov vyplýva, že AdSV je možné stanoviť koncentrácie Sb(III) $c \geq 0,5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ resp. $0,2 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ pri využití pyrokatecholu resp. kyseliny chloranilovej ako komplexotvorného činidla. Nižšie koncentrácie sa dajú stanoviť len ASV. Pri stanovení Sb(V) resp. celkového Sb vo forme Sb(III) metódou AdSV nie je možné stanoviť $c(\text{Sb}) < 2 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ bez prekoncepcie. Zvýšením iónovej sily vzoriek pridaním HCl, potrebnej ako prostredie pre redukciu, sa výrazne zvýši detekčný limit. Pre nižšie koncentrácie celkového Sb je preto vhodnejšia metóda ASV.

Interferencie

Pri aplikácii analytickej metódy na prírodné vody je potrebné poznať vplyvy anorganických a organických interferentov, ktoré môžu byť prítomné vo vzorkách. Potenciálnym anorganickým interferentom pri stanovení Sb v prírodných vodách metódou ASV je Cu(II), ktorá je elektroaktívna v tej istej potenciálovej oblasti. Na rozlíšenie Sb(III) a Cu(II) sa môže využiť rôzna stabilita ich chlorokomplexov. So zvyšovaním koncentrácie HCl sa potenciály pík Sb(III) a Cu(II) posúvajú k negatívnejším hodnotám, pričom posun $E_p(\text{Cu})$ je výraznejší (obr. 3). Zmena koncentrácie HCl z $0,1$ na $2,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ spôsobí 150 mV posun $E_p(\text{Cu})$, ale len 25 mV posun $E_p(\text{Sb})$. Výrazný posun $E_p(\text{Cu})$ s koncentráciou HCl spôsobuje zmenu poradia pík Sb(III) a Cu(II). Pri $c(\text{HCl}) \geq 0,35 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ sa Sb(III) ochotnejšie redukuje ako Cu(II). Táto skutočnosť umožňuje vhodnou voľbou E_d minimalizovať interferenciu Cu(II). Koncentrácia HCl $c(\text{HCl}) \geq 1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ je vhodným prostredím na stanovenie Sb za prítomnosti Cu(II). V prostredí $1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ HCl (vhodnom pre selektívne stanovenie Sb(III) pri $E_d = -0,2 \text{ V}$), môže byť tolerovaná 25 násobne vyššia hmotnostná koncentrácia Cu(II). Vyššie koncentrácie HCl, ktoré môžeme aplikovať na stanovenie celkového Sb, umožňujú stanovenia Sb(III) za prítomnosti ešte vyššieho nadbytku Cu(II)



Obr. 3. Vplyv koncentrácie HCl na potenciál pík Sb(III) (●) a Cu(II) (○) pre DPASV; $c(\text{Sb}) = 2,4 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$; $c(\text{Cu}) = 3,2 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$; čas depozície 120 s; potenciál depozície $-0,3 \text{ V}$

(napr. pri molovom pomere $n(\text{Cu})/n(\text{Sb}) \leq 200$ v prostredí $1,5 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ HCl). Elimináciu interferencie Cu(II) uľahčuje aj tá skutočnosť, že Cu(II) na rozdiel od Sb(III) dáva v prostredí HCl nízky a široký pík v dôsledku 1 elektrónového strippovacieho procesu, ktorý sa zvyšovaním koncentrácie HCl výrazne znižuje. Pri zmene koncentrácie HCl z $0,5$ na $1,8 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ pík Cu(II) klesne o 80 %, kým výška píku Sb(III) zostáva takmer nezmenená. Možnosť stanovenia Sb(III) za prítomnosti Cu(II) pri vhodne zvolených experimentálnych podmienkach ($c(\text{HCl})$, E_d) metódou ASV potvrdzujú aj analýzy modelových vzoriek (tabuľka II).

Pri stanovení Sb(III) metódou AdSV Cu(II) neinterferuje. Sb(III) sa dá stanoviť aj za prítomnosti vysokého nadbytku Cu(II) (2–3 poriadky). Svedčia o tom aj výsledky analýz modelových vzoriek (tabuľka I, III). Pri AdSV využívajúcej komplex Sb(III)–pyrokatechol za prítomnosti vysokého nadbytku Cu(II) nie je vhodné pridávať EDTA, pretože pík Cu(II) sa posúva k negatívnejším potenciálom a môže dôjsť k prekrytiu píku Sb(III). Pri AdSV stanovení Sb potenciálnymi interferentami sú kovové ióny, ktoré vytvárajú s daným komplexotvorným činidlom komplexy adsorbujúce sa na HMDE alebo poskytujú katodické píky v tej istej potenciálovej oblasti. V prípade AdSV využívajúcej komplex Sb(III) s kyselinou chloranilovou takýmito interferentami sú Pb(II) a Sb(V). Pb(II) ovplyvňuje signál Sb(III) až pri $c > 20 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Interferenciu Pb(II) nie je možné eliminovať pridaním EDTA. Za prítomnosti EDTA komplex Sb(III)–CAA nevzniká. Prírodný obsah Pb(II) v prírodných vodách je však výrazne nižší. Detekčný limit Sb(V) za podmienok optimálnych pre stanovenie Sb(III) je asi o 2 poriadky vyšší. Jeho interferencia sa prejaví až pri pomere $c(\text{Sb(V)})/c(\text{Sb(III)}) \geq 100$. Preto pri analýze vzoriek s vysokým nadbytkom Sb(V) vzhľadom k Sb(III) treba počítať s jeho interferenciou. Potvrdzujú to aj výsledky analýz modelových vzoriek s koncentráciou Sb(III) $1,95 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ a Sb(V) v intervale 20–200 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Kyselina chloranilová bola využitá ako komplexotvorné činidlo aj na stanovenie Mo, V, W a U metódou AdSV. Podľa autorov¹⁷ stanovenie Sb nemôže byť ovplyvnené týmito prvkami pre ich výrazne rozdielne akumulácie a rozpúšťacie potenciály.

Najväčším potenciálnym interferentom pri stanovení Sb(III) na základe komplexu s pyrokatecholom je Cd(II). DPV signál Cd(II) sa objaví pri $c \geq 5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. V prírodných vodách Cd(II) je väčšinou na nižšej koncentračnej úrovni, aby sa prejavila interferencia. Vplyv vyšších koncentrácií Cd(II) mô-

že byť eliminovaný prídavkom EDTA. S pyrokatecholom vytvárajú komplexy aj Fe, V a U. Pretože netvorí amalgámy, ich interferencia je znížená použitím potenciálu depozície $-1,0$ V, ktorý je negatívnejší ako potenciál redukcie ich komplexov¹⁶.

Reálne vzorky vôd obsahujú popri anorganických zložkách aj organické najmä vo forme humínových látok, ktoré adsorpciou na povrch Hg elektródy nepriaznivo ovplyvňujú signál analytu, prípadne viažu kovové ióny do inaktívnych komplexov. Hlavnou frakciou humínových látok v prírodných vodách (40–85 %) sú fulvénové kyseliny. Výraznejší pokles signálu je pozorovaný pri AdSV technikách. Koncentrácia fulvénoových kyselín 5 mg.l^{-1} spôsobí 75 % zníženie píku pri AdSV a 30 % pri ASV. Pokles ASV signálu Sb(III) na polovinu nastal až pri koncentrácii fulvénoových kyselín 20 mg.l^{-1} . Vplyv humínových kyselín na voltampérometrický signál Sb(III) je ešte výraznejší. Za prítomnosti humínových kyselín a fulvénoových kyselín vhodnejším potenciálom pre nahromadenie Sb(III) adsorpciou vo forme komplexu Sb(III)–CAA je potenciál $0,1$ V. Za týchto podmienok signál klesá, ale nie je deformovaný. Pri $E_d = -0,15$ V (odporúčaný ako optimálny) pík Sb(III) sa deformuje, čo zhoršuje jeho vyhodnotenie.

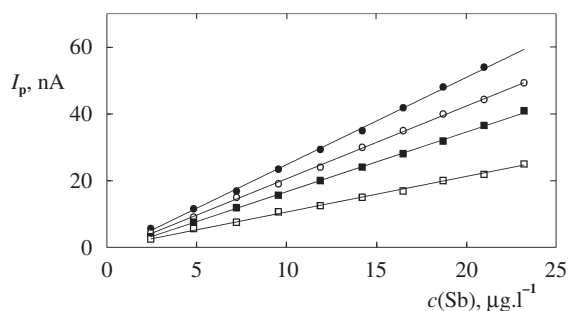
Z uvedených výsledkov vyplýva, že ASV stanovenie Sb(III) je najmenej ovplyvnené prítomnosťou fulvénoových a humínových kyselín. Možnosť stanovenia Sb(III) metódou štandardných prídavkov sa testovala zostrojením kalibračných kriviek pri rôznych koncentráciách fulvokyselín (obr. 4.) Z kalibračných závislostí vyplýva, že Sb(III) môže byť stanovený touto metódou vo väčšine prírodných vôd priamo bez predúpravy, hoci s nižšou citlivosťou. Potvrdzujú to aj výsledky analýz modelových vzoriek s obsahom fulvokyselín menším ako 10 mg.l^{-1} (tabuľka II).

Pri stanovení celkového Sb je možné humínové látky odstrániť deštrukciou UV žiarením alebo zahrievaním minerálnymi kyselinami. Tento postup nie je možné využiť pri špeciácii Sb, pretože narušuje prirodzenú distribúciu Sb medzi dve redoxné formy Sb(III) a Sb(V). Vo vzorkách podzemných vôd je obsah humínových látok veľmi nízky a pri metóde štandardných prídavkov ich interferencia je zanedbateľná.

Analýza prírodných vôd

Stripping voltampérometrické techniky sa aplikovali na analýzu 8 vzoriek podzemných vôd z oblasti stredného Slovenska. Sb(III) v analyzovaných vzorkách sa stanovil metódou ASV priamo po pridaní HCl v takom množstve, aby jej výsledná koncentrácia bola 1 mol.l^{-1} . Koncentrácia Sb(III) bola vyhodnotená metódou štandardných prídavkov. Koncentrácie Sb(III) boli veľmi nízke, pohybovali sa pod $0,2 \text{ } \mu\text{g.l}^{-1}$. Výnimkou bola vzorka SV, v ktorej bol Sb(III) stanovený aj AdSV za prítomnosti pyrokatecholu ($18,7 \pm 1,5 \text{ } \mu\text{g.l}^{-1}$). Koncentrácia Sb(III) v ostatných vzorkách bola pod medzou stanovenia metód AdSV. Zo získaných výsledkov zhrnutých v tabuľke IV vyplýva, že presnosť stanovení Sb(III) metódou ASV na takejto nízkej koncentračnej úrovni je dobrá. Relatívne štandardné odchýlky priemeru 5–10 stanovení každej vzorky sa pohybujú v intervale 4–9 %.

Celkový obsah Sb v prírodných vodách sa stanovil po redukcii Sb(V) na Sb(III) kyselinou askorbovou (v prostredí 1 mol.l^{-1} HCl pri teplote 100 °C). Výsledky dosiahnuté metódami ASV a AdSV sú zhrnuté v tabuľke V a predstavujú dobrú



Obr. 4. Kalibračné krivky Sb(III) pre DPASV pri rôznych koncentráciách fulvénoových kyselín; $c(\text{HCl}) = 1 \text{ mol.l}^{-1}$; potenciál depozície $-0,2$ V; čas depozície 120 s; $c(\text{FK})$: 0 (●); 2,7 (○); 5,3 (■); 16 (□) $\mu\text{g.l}^{-1}$

Tabuľka IV
Výsledky stanovenia Sb(III) v prírodných vodách metódou ASV

Vzorka [$\mu\text{g.l}^{-1}$]	Koncentrácia Sb ^a [%]	$s_{\bar{x}}$ ^a [%]
SV	$20,6 \pm 2,3$	4,2
B-1	$0,15 \pm 0,03$	8,5
B-2	–	–
KL	$0,11 \pm 0,02$	8,2
LP	$0,10 \pm 0,02$	8,1
JS	$0,18 \pm 0,03$	5,4
DK	$0,10 \pm 0,03$	8,9
NT	–	–

^a Pre $n = 5-10$

zhodu. Zhodnosť výsledkov stripping voltampérometrických techník bola testovaná Studentovým testom na danom počte analyzovaných vzoriek. Rozdiely neboli štatisticky významné a môžu byť vysvetlené náhodnými chybami. Koncentrácia celkového Sb v analyzovaných vzorkách sa pohybovala v širokom koncentračnom rozmedzí od $0,3$ po $100 \text{ } \mu\text{g.l}^{-1}$. Presnosť stanovení je dobrá, relatívne štandardné odchýlky neprekročili 8 %. Výsledky dosiahnuté stripping voltampérometrickými technikami boli porovnané s výsledkami získanými v laboratóriu spektrálnych metód nezávislou metódou atómovej absorpčnej spektrometrie s generáciou hydridov (HGAAS). Na testovanie zhodnosti výsledkov bola využitá Youdenova metóda ($a = -0,2274$; $b = 0,9675$; $r = 0,9995$). Z porovnania výsledkov v tabuľkách IV a V vyplýva, že prevládajúcou formou Sb v analyzovaných vzorkách podzemných vôd bol Sb(V), tvoril viac ako 98 % z celkového Sb s výnimkou vzorky SV.

Záver

V predloženej práci boli porovnané stripping voltampérometrické metódy s rôznym spôsobom nahromadenia Sb na HMDE z hľadiska stanovenia anorganických foriem Sb v prí-

Tabuľka V
Výsledky stanovenia celkového Sb v prírodných vodách

Vzorka	ASV		AdSV-CAA ^a		AdSV-Py ^b		HGAAS c(Sb) [μg.l ⁻¹]
	c(Sb) [μg.l ⁻¹]	s _{x̄} [%]	c(Sb) [μg.l ⁻¹]	s _{x̄} [%]	c(Sb) [μg.l ⁻¹]	s _{x̄} [%]	
SV	98,7±5,1	2,1	99,9±5,8	2,4	96,2±5,8	2,5	–
B-1	65,6±4,0	2,6	66,4±2,4	1,5	68,1±4,3	2,7	68,7
B-2	33,3±1,6	2,0	33,5±1,3	1,7	32,0±1,6	2,1	34,4
LP	31,3±2,4	3,3	33,1±2,4	3,2	32,2±4,4	5,8	34,1
KL	23,3±2,3	4,1	23,4±1,4	2,4	21,4±1,4	2,8	23,0
JS	6,74±0,48	3,0	6,76±0,76	4,6	5,84±0,66	4,6	7,24
NT	0,72±0,48	5,4	–	–	–	–	0,68
DK	0,33±0,06	7,2	–	–	–	–	–

^a AdSV komplexu s kyselinou chloranilovou, ^b AdSV komplexu s pyrokatecholom

rodných vodách. Rozdielne elektrochemické vlastnosti Sb(III) a Sb(V) umožňujú ich špeciáciu. Sb(III) sa stanovil priamo, celkový Sb po transformácii Sb(V) na Sb(III) redukciou s kyselinou askorbovou pri 100 °C v prostredí 1 mol.l⁻¹ HCl. Sb(III) sa akumuloval na HMDE elektroredukciou vo forme amalgámu (ASV) alebo adsorpciou vo forme komplexov s pyrokatecholom a kyselinou chloranilovou (AdSV). Na testovanie analytických postupov sa použili vzorky umelej riečnej vody so známou koncentráciou Sb(III) a Sb(V). Vypracovaný postup sa aplikoval na stanovenie stopových koncentrácií Sb(III) a celkového Sb vo vzorkách podzemných vôd. Výhodou ASV oproti AdSV technikám je nižší detekčný limit a menší vplyv humínových látok na signál Sb(III). Nevýhodou je interferencia Cu(II) pri vyšších koncentráciách. Naopak AdSV umožňuje stanoviť Sb(III) aj za prítomnosti Cu(II), ktorej koncentrácia je o niekoľko poriadkov vyššia.

Práca bola vypracovaná v rámci grantu VEGA č. 1/6266/99.

LITERATÚRA

1. Andrae M. O., Asmode J. F., Foster P., Van't dack L.: *Anal. Chem.* 53, 1766 (1981).
2. Smichowski P., Madrid Y., Cámara C.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 360, 623 (1998).
3. Farkašová I., Závadská M., Žemberyová M.: *Chem. Listy* 93, 173 (1999).
4. Gillain G., Duyckaerts G., Di Steche A.: *Anal. Chim. Acta* 106, 23 (1979).
5. Piccardi G., Udristi R.: *Mikrochim. Acta* 1979 II, 447.
6. Weidenauer M., Lieser K. H.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 320, 550 (1985).
7. Gillain G.: *Talanta* 29, 651 (1989).
8. Bubník J.: *Chem. Listy* 91, 200 (1997).
9. Gilbert T. R., Hume D. N.: *Anal. Chim. Acta* 65, 451 (1973).
10. Svintsonova L. D., Kaplin A. A., Rubinskaya T. B., Mordrinova N. N.: *Zh. Anal. Khim.* 46, 156 (1991).
11. Adeloju S. B., Young T. M., Jagner D., Batley G. E.: *Analyst* 123, 1871 (1998).
12. Huiliang H., Jagner D., Renman L.: *Anal. Chim. Acta* 202, 123 (1987).
13. Wang E., Sun W., Yang Y.: *Anal. Chem.* 56, 1903 (1984).
14. Ruan X.: *Fenxi Shiyanshi* 9, 12 (1990); *Chem. Abstr.* 114, 234746 (1991).
15. Khoo S. B., Zhu J.: *Anal. Chim. Acta* 373, 15 (1998).
16. Capodaglio G., Van den Berg C. M. G., Scarponi G.: *J. Electroanal. Chem.* 235, 275 (1987).
17. Wagner W., Sander S., Henze G.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 354, 11 (1996).
18. Chakraborti D., Adams F. M., Irgolic K. J.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 323, 340 (1986).
19. Rúriková D., Počuchová M.: *Chem. Pap.* 51, 15 (1997).

D. Rúriková and L. Dziačková (Department of Analytical Chemistry, Faculty of Natural Sciences, Comenius University, Bratislava, Slovak Republic): **Stripping Voltammetric Determination of Inorganic Antimony Species in Natural Waters**

Stripping voltammetric techniques used for the determination of trace levels of antimony species in water samples are compared. The voltammetric behavior of Sb depends on its oxidation state. For the determination of Sb(III), water samples were used without pretreatment. The total antimony was estimated after reduction of Sb(V) to Sb(III) with ascorbic acid in 1 mol.l⁻¹ HCl. Antimony(III) was accumulated on a hanging mercury drop electrode either by electrochemical reduction to the element (ASV) or by adsorptive collection as complexes with pyrocatechol and chloranilic acid (AdSV). Water spiked with standard solutions of Sb(III) and Sb(V) was used for the testing of stripping voltammetric techniques. The relative standard deviations ranged from 0.9 to 9.2 % and the recoveries were > 90.7 % for both Sb species. Finally, the developed methods were successfully applied to the analysis of Sb in underground waters. Excellent agreement of our results of total Sb with those obtained by the HGAAS technique confirms the suitability of stripping voltammetric methods for antimony determination.

STANOVENÍ CH₃Hg SKUPIN V RYBÍM MASE METODOU HPLC S UV DETEKČÍ

JIŘÍ ŠPIČKA, LUBOMÍR SVOBODA
a DAGMAR JANOUŠKOVÁ

Katedra chemie, Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice
e-mail: spicka@zf.jcu.cz

Došlo 31.5.02, přepracováno 10.12.02, přijato 29.5.03.

Klíčová slova: methylrtuť, extrakce tuhou fází, HPLC, ryby

Úvod

Vysoká toxicita organických sloučenin rtuti, vyskytujících se v přírodních materiálech včetně některých potravin, vedla ke značnému zájmu o jejich stanovení. Nejvýznamnější organické sloučeniny rtuti, s kterými se setkává toxikolog, jsou methylhydrargyrioderiváty obsahující skupinu CH₃Hg.

Pro stanovení CH₃Hg skupiny v biologickém materiálu byla v průběhu let vypracována celá řada analytických postupů. Nejčastěji využívané metody obvykle zahrnují tři stupně. Prvním je uvolnění CH₃Hg skupiny z vazby na proteiny, následuje přečištění a často i zakoncentrování analytu. Posledním stupněm je obvykle chromatografická analýza s vhodnou detekcí.

Pro uvolnění CH₃Hg skupin z vazby na biologické materiály, kde jsou vázány zejména na thiolové skupiny proteinů, se doporučuje extrakce koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou. Vzniká tak methylhydrargyriumchlorid CH₃HgCl (cit.¹). Pro některé materiály (rybí tkáň, vlasy) je někdy využívána alkalická hydrolyza, při níž se štěpí tuky a bílkoviny. Usnadní se tak uvolnění CH₃Hg skupiny²⁻⁴.

Pro oddělení, zakoncentrování a přečištění analytu stále převažují metody využívající extrakci z kapaliny do kapaliny. Při klasickém postupu je methylhydrargyriumchlorid nejprve extrahován z vodné fáze do organického nepolárního rozpouštědla, nejčastěji toluenu nebo chloroformu. Následuje další přečištění reextrakcí do vodného roztoku thiosíranu sodného. Při tomto postupu ovšem dochází ke značným ztrátám analytu. Jsou uváděny i více než 60% úbytky^{2,5-7}.

Perspektivnější se jeví využití techniky extrakce tuhou fází (SPE). Methylhydrargyriumchlorid je reakcí s vhodným činidlem převeden na nepolární sloučeninu, kterou lze na SPE kolonkách s fází C18 dobře zachytit. Běžně se používá APDC (amonná sůl pyrrolidin-1-yl-dithiokarbamátu)^{5,8}.

Pro vlastní stanovení CH₃Hg skupiny je dosud využívána technika plynové chromatografie, ale v posledních letech je preferována metoda HPLC s obrácenou fází⁸. Izolované methylhydrargyriosloučeniny musí být pro tuto techniku převedeny na nepolární látky. Užívá se dithiokarbamát nebo dithizon^{5,9}. V této souvislosti je výhodné využití techniky SPE pro

přečištění a zakoncentrování analytu, protože takto získané vzorky lze přímo použít pro HPLC. Vzhledem k malým koncentracím CH₃Hg skupiny v přírodních vzorcích jsou v HPLC používány detektory s vysokou citlivostí. V současnosti je běžná AAS detekce (selektivní detektory na bázi studených par rtuti)^{5,10}. Objevuje se i využití MS detektorů, např. v kombinaci ICP-MS (cit.¹¹). Běžný UV/VIS detektor není bohužel pro popisované postupy příliš citlivý⁸.

V některých biologických materiálech, např. v rybím mase, lze ovšem očekávat poměrně vysoké koncentrace methylrtuťnatých sloučenin. Pokusili jsme se proto vyvinout postup, který by umožňoval stanovení CH₃Hg skupiny v uvedených materiálech s využitím běžného přístroje HPLC s UV/VIS detekcí.

Experimentální část

Použité přístroje a chemikálie

Měření byla prováděna na přístroji HPLC SpectraSYSTEM fy TSP (čerpadlo P2000 s UV/VIS detektorem UV3000HR). Použitá kolona byla typu C18 Res Elut-ENV 150×4,60 mm 4,5 μm fy Varian. Analyt byl izolován metodou SPE na zařízení VISIPREP fy Supelco s využitím kolonek LiChrolut RP18 – 500 mg fy Merck.

Pro přípravu mobilní fáze a izolaci extrakcí tuhou fází (SPE) byly použity acetonitril LiChrosolv (gradient grade), voda LiChrosolv, methanol p.a. a APDC (amonná sůl pyrrolidin-1-yl-dithiokarbamátu) fy Merck. Jako standard byl použit CH₃HgCl fy Johnson Matthey. Ostatní použité chemikálie byly běžné čistoty p.a.

H P L C a n a l ý z a

Podmínky HPLC analýzy jsou uvedeny v tabulce I.

Použitá koncentrace APDC v mobilní fázi představuje kompromis mezi uspokojivou opakovatelností analýzy a základem absorpční mobilní fáze. Minimální použitelná koncentrace byla 3.10⁻⁵ mol.l⁻¹. Při nižších hodnotách již vymizel pík analytu. Základní absorpance použité mobilní fáze proti směsi acetonitril/voda (optická dráha 10 mm) byla 600 mAU při 249 nm.

Tabulka I
HPLC podmínky

Parametr	Hodnota
Použitá kolona	C18 Res Elut-ENV 150×4,60 mm 4,5 μm fy Varian
Složení mobilní fáze	acetonitril/voda 47/53 (v/v), APDC 5.10 ⁻⁵ mol.l ⁻¹
Průtok mobilní fáze	1,5 ml.min ⁻¹
Detekce	249 nm ^a
Objem nástřiku	20 μl

^a Lze pracovat i při 254 nm bez zásadního snížení odezvy detektoru

Izolace analytu

Vzhledem k nižší citlivosti při použití UV detekce bylo použito relativně větší množství vzorku. 10 g čerstvé rybí svaloviny bylo nejprve rozrušeno zahříváním při 60 °C se 40 ml hydroxidu sodného ($c = 3 \text{ mol.l}^{-1}$) po dobu 30 min. Analyt byl následně uvolněn z matrice po přidání 50 ml kyseliny chlorovodíkové ($c = 3 \text{ mol.l}^{-1}$) (pH směsi menší než 1) půlhodinovou extrakcí v ultrazvukové lázni. Proteiny ve směsi byly vysráženy upravením pH směsi na 3,5 roztokem NaOH a odfiltrovány. Oddělení proteinu je kritickou fází celého postupu, je proto nutné předem zjistit nejvhodnější pH pro určitou matici.

Analyt byl v dalším postupu izolován ze směsi metodou SPE. Parametry SPE jsou uvedeny v tabulce II. K filtrátu bylo přidáno 0,1 ml roztoku APDC ($c = 5 \cdot 10^{-2} \text{ mol.l}^{-1}$). Získaný extrakt byl odpařen do sucha při 60 °C proudem dusíku a rozpuštěn v 0,2 ml mobilní fáze. Takto získaný vzorek byl přímo nastříkovan do kapalinového chromatografu.

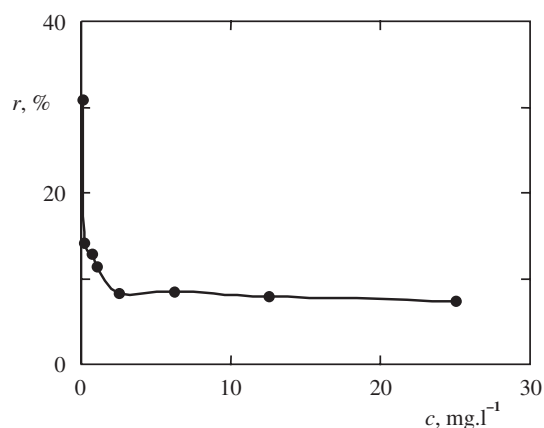
Tabulka II
Parametry SPE

Parametr	Hodnota
Kondicionace kolonky	3 ml H ₂ O
Sušení kolonky	15 min prosáváním vzduchu
Eluce analytu	2×0,5 ml CH ₃ OH

Výsledky a diskuse

Postup HPLC

Optimální parametry HPLC analýzy byly určeny s využitím roztoků CH₃HgCl. Analýza byla ověřována roztoky CH₃HgCl o koncentraci rtuti 0,125 až 25 mg.l⁻¹ na osmi hladinách při pěti opakováních. Relativní intervaly spolehlivosti ($P = 0,9$)



Obr. 1. Relativní interval spolehlivosti r (%) stanovení CH₃Hg při různé koncentraci c kalibračních roztoků

pro jednotlivé hladiny koncentrace jsou uvedeny na obr. 1, celkový koeficient korelace $R = 0,9987$.

Výsledky naznačují, že metoda je použitelná pro vyšší koncentrace CH₃Hg skupin. Mez stanovitelnosti pro relativní interval spolehlivosti 0,1 ($P = 0,9$) pro uvedené podmínky analýzy je 1,3 mg.l⁻¹.

Izolace analytu

Výtěžnost analytu v jednotlivých stupních analytického postupu byla testována na pěti hladinách koncentrace s pětinásobným opakováním na každé hladině. Stupeň SPE byl testován roztoky CH₃HgCl o koncentraci Hg 0,5 až 25 mg.l⁻¹, SPE s následným odpařením do sucha roztoky o koncentraci rtuti 0,1 až 5 mg.l⁻¹ a celý postup přidavkem CH₃HgCl v množství 0,1 až 5 µg Hg k 10 g čerstvé rybí svaloviny. Výtěžnost byla vyhodnocena regresní analýzou – stanovené množství Hg proti původnímu, resp. přidávanému množství Hg. Hodnoty regresních koeficientů pro jednotlivé stupně jsou uvedeny v tabulce III.

Podle uvedených výsledků nejsou ztráty analytu pro uvedený postup analýzy na hladině spolehlivosti $P = 0,9$ statisticky významné. Celková mez stanovitelnosti metody v přepočtu na vzorek o hmotnosti 10 g je pak 26 µg.kg⁻¹.

Tabulka III
Výtěžnost CH₃Hg skupin v jednotlivých stupních analytického postupu

Stupeň analýzy	Regresní koeficient ^a	Mez ($P = 0,9$)	
		dolní	horní
SPE	0,9917	0,9641	1,0193
SPE + odpar	0,9832	0,9527	1,0137
Vzorek s přidavkem	0,9819	0,9306	1,0332

^a Regresní koeficienty závislosti teoreticky přítomného a stanoveného množství Hg

Přesnost a správnost metody

Přesnost a správnost metody byla ověřována s využitím referenčního materiálu CRM 464 (tuňák), produktu BCR (Community Bureau of Reference) s deklarovaným obsahem CH₃Hg 5,50 mg.kg⁻¹ s intervalem spolehlivosti ($P = 0,95$) 0,17 mg.kg⁻¹.

Bylo provedeno pět paralelních stanovení při navázce vzorku 0,2 g. Poměr stanoveného a deklarovaného množství Hg byl 0,9371 s intervalem spolehlivosti ($P = 0,9$) 0,1183. Vzhledem k tomu, že poměr stanoveného a deklarovaného množství Hg je významně ($P = 0,9$) odlišný od 1,0, byly u reálných vzorků výsledky korigovány koeficientem 0,9371.

Praktická aplikace

Uvedená metoda byla použita pro stanovení CH₃Hg ve svalovině ryb z několika lokalit ČR. Výsledky jsou uvedeny v tabulce IV.

Ze 17 vzorků byl pouze v jednom případě zjištěn obsah

Tabulka IV

Koncentrace Hg ve formě CH₃Hg skupin ve svalovině ryb z několika lokalit ČR

Lokalita	Druh ryby	Počet vzorků	Koncentrace CH ₃ Hg [μg(Hg).kg ⁻¹]		
			průměr	minimum	maximum
Malše – vodní nádrž Římov	bolen dravý	4	33,4	26,5	43,2
	okoun říční	1	120	–	–
Vltava – Klecany	štika obecná	6	131	75,2	195
	okoun říční	2	132	68,4	195
Labe – Štětí	jelec tloušť	4	425	334	602

Hg mírně pod určenou mezí stanovitelnosti. Lze proto konstatovat, že metoda je pro uvedený typ materiálu použitelná. Použití ji lze i pro stanovení CH₃Hg skupin ve svalovině mořských ryb, případně i některých orgánech s nízkým obsahem tuku.

Srovnání s jinými postupy

Použitý postup při izolaci analytu se ve srovnání s re-extrakčními postupy^{2,5-7} vyznačuje vysokou výtěžností. Nevýhodou je nižší mez stanovitelnosti při UV detekci. Jako zajímavé se v této souvislosti jeví použití citlivějších detektorů^{5,10,11} ve spojení s popsáním izolačním postupem.

Závěr

Popsaná metoda je použitelná pro stanovení skupin CH₃Hg v biologických vzorcích, kde lze předpokládat jejich obsah minimálně v desítkách μg.kg⁻¹, a to s využitím běžné laboratorní techniky. Výhodou je zejména vysoká výtěžnost analytu.

Práce byla realizována s podporou grantu FRVŠ 0173/1999.

LITERATURA

1. Wilken R. D., Hinttelmann H., v knize: *Metal Speciation in the Environment* (Broekaert J. A. C., Grucer S., Adams F., ed.), NATO ASI Ser., sv. G23, str. 339. Springer-Verlag, Berlin 1990.
2. Vural N., Ünlü H.: *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 57, 315 (1996).
3. Caricchia A. M., Minervini G., Soldati P., Chiavarini S., Ubaldi C., Morabito R.: *Microchem. J.* 55, 44 (1997).
4. Yoshinaga J., Morita M., Okamoto K.: *J. Anal. Chem.* 357, 279 (1997).
5. Aceto M., Foglizzo A. M., Mentasti E., Sacchero G., Sarzanini C.: *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 60, 1 (1995).
6. Cai Y., Tang G., Jaffé R., Jones R.: *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 68, 331 (1997).
7. Mizuishi K., Takeuchi M., Hobo T.: *Chromatographia* 44, 386 (1997).
8. Cela R., Lorenzo R. A., Mejuto M. C., Bollanu M. H., Boltana A., Rubi E., Medina M. I.: *Mikrochim. Acta* 109, 111 (1992).
9. Minagawa K., Sasaki T., Takizawa R., Kifune I.: *Anal. Chim. Acta* 115, 103 (1980).
10. Falter R., Schöler H. F.: *Chemosphere* 29, 1333 (1994).
11. Harrington C. F., Catterick T.: *J. Anal. At. Spectrom.* 2, 1053 (1997).

J. Špička, L. Svoboda, and D. Janoušková (*Department of Chemistry, Faculty of Agriculture, University of South Bohemia, České Budějovice*): **Determination of CH₃Hg Groups in Fish Muscle by HPLC with UV Detection**

An analytical method was developed for the determination of the CH₃Hg group content in fish muscles. CH₃HgCl was isolated by SPE and determined by HPLC with UV detection. The method can be used for samples with high CH₃Hg contents. The detection limit was 26 μg.kg⁻¹ in 10 g samples.

56. sjezd chemických společností

Ostrava
6.–10. září 2004

Pořádající organizace

Asociace českých chemických společností
Asociácia slovenských chemických a farmaceutických spoločností
ve spolupráci s
VŠB-Technickou univerzitou a Ostravskou univerzitou

Sekce sjezdu

Chemie uhlí, produktů jejich zpracování a chemie uhlíkatých materiálů
Analytická chemie a chemometrie
Anorganická chemie
Organická, bioorganická a farmaceutická chemie
Fytochemie
Potravinářská chemie
Chemie životního prostředí, rizikové látky v chemii a jejich likvidace
Fyzikální chemie a chemická fyzika
Makromolekulární chemie a technologie polymerů
Chemické vzdělávání, chemická informatika a historie chemie
Petrochemie
Jaderná chemie
Chemie a struktura materiálů
Průmyslová chemie

Organizační výbor

<i>Předseda:</i>	Doc. Ing. Petr Pánek, CSc., rektor OU, petr.panek@osu.cz
<i>Místopředseda:</i>	Doc. Ing. Bořivoj Fiala, CSc., MARBO A.P.S., vrbovskysfp@quick.cz
<i>Hospodář:</i>	Ing. Vladimíra Plačková, FMMI VŠB-TU, vladimira.plackova@vsb.cz
<i>Vědecký tajemník:</i>	Doc. RNDr. Ervín Kozubek, CSc., FMMI VŠB-TU, ervin.kozubek@vsb.cz
<i>Organizační tajemník:</i>	RNDr. Václav Slovák, Ph. D., FMMI VŠB-TU, vaclav.slovak@vsb.cz, vaclav.slovak@osu.cz
<i>Kontaktní adresa:</i>	vaclav.Slovak@vsb.cz



Česká společnost chemická
Redakce časopisu Chemické listy
Novotného lávka 5
116 68 Praha 1
tel. 221 082 370, tel., fax 222 220 184
e-mail: chem.listy@csvts.cz

PROČ SE STÁT ČLEMEM SPOLEČNOSTI

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

- kontakty, informace, služby, možnosti, uplatnění...
- zasílání Bulletinu Chemických listů,
- možnost objednání předplatného Chemických listů s výraznými slevami,
- možnost objednání předplatného dalších vybraných chemických časopisů,
- podstatné slevy u vložného na sjezdech a konferencích, jejichž oficiálním pořadatelem je ČSCh,
- členské informace o nových knihách, produktech a službách i o připravovaných odborných akcích na celém světě,
- informace o dění v evropských strukturách, jako např. ALLChemE, ECCC, FECS a pod.,
- přístup k elektronickým informačním médiím Společnosti,
- možnost zažádání o evropskou nostrifikaci chemického vzdělání a odborné praxe spojenou s udělením titulu EurChem, platného v celé EC,
- přístup k službám Literature Information Center v Londýně (přes sekretariát ČSCh) s řadou služeb zdarma, ostatní (xeroxy, separáty aj.) za „členské poplatky“,
- významnou slevu (ca 90%) na předplatném časopisu Chemistry – A European Journal,
- přístup ke službám a slevám poskytovaným členskými organizacemi EC3 a FECS pro členy národních organizací,
- možnost přidruženého členství v IUPAC, a z toho plynoucí sleva u nakladatelství Blackwell a na konferencích sponzorovaných IUPAC, členové IUPAC dostávají časopis Chemistry International,
- možnost slevy na členských příspěvcích při vstupu do Evropské chemické společnosti ECS,
- možnost získání a doporučení členské přihlášky do významných zahraničních chemických společností (RSC, ACS, GDCh, GÖCh, SFC aj.),
- slevu na knihy u řady nakladatelství (Wiley-VCH, ITP, Brooks and Cole, Springer aj.) při objednávkách cestou sekretariátu ČSCh. Týká se většiny titulů.
- možnost získání předplatného pro webové verze časopisů produkovaných a distribuovaných ACS za „členské ceny“,
- možnost získání příležitostných slev obchodních firem spolupracujících s ČSCh,
- slevu při zapůjčení automobilu (až 35%) u společností AVIS a HERTZ na celém světě, kromě Austrálie, a použití těchto automobilů na akcích v ČR za speciální tarify,
- možnost uplatnit informace z vlastní pracovní činnosti (výsledky, novinky, inzerce, tisková oznámení aj.),
- možnost zveřejnění vlastního oznámení v rubrice Bulletinu Chemických listů „Práci hledají“,
- firmám, podnikům, institucím a dalším právnickým osobám nabízí ČSCh mimo jiné i tzv. „kolektivní členství“, při kterém se ve vzájemné smlouvě sjedná to, čím mohou pomoci jedna strana druhé.

Přihlášky do České společnosti chemické jsou k vyzvednutí na sekretariátě ČSCh, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1.

OBSAH**ÚVODNÍK** 975**REFERÁTY****Tepelné zpracování čistírenských kalů** 976
M. Hartman, K. Svoboda, V. Veselý, O. Trnka
a J. Chour**Správná laboratorní praxe od nedávné
minulosti po současnost** 983
P. Finger a I. Koruna**Možnosti aerobního mikrobiálního
odbourávání trichlorethenu** 986
M. Sergejevová a J. Růžička**Biodegradácia a bioremediácia
pentachlórfenolu (PCP)** 991
K. Dercová, Z. Kyseřová, G. Barančíková,
Z. Sejáková a A. Mařová**Elektrochemické biosenzory v analýze
zemědělských produktů a vzorků
životního prostředí** 1003
R. Kizek, J. Vacek, L. Trnková, B. Klejdus
a V. Kubáň**Selektivní katalytická redukce NO_x
uhlovodíky v oxidační atmosféře
na zeolitových katalyzátorech** 1007
L. Čapek a B. Wichterlová**NOMENKLATURA A TERMINOLOGIE****DOPORUČENÍ IUPAC** 1016
Terminology in Soil Sampling
(J. Kahovec)**LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY****Stripping voltampérometrické stanovenie
anorganických foriem antimónu
v prírodných vodách** 1017
D. Rúriková a L. Dziačková**Stanovení CH₃Hg skupin v rybím mase
metodou HPLC s UV detekcí** 1024
J. Špička, L. Svoboda a D. Janoušková

CONTENTS**EDITORIAL** 975**REVIEW ARTICLES****Sewage Sludge Thermal Processing** 976
M. Hartman, K. Svoboda, V. Veselý,
O. Trnka, and J. Chour**Good Laboratory Practice since
the Recent Past until the Present Time** 983
P. Finger and I. Koruna**Potentials of Aerobic Microbial
Degradation of Trichloroethene** 986
M. Sergejevová and J. Růžička**Biodegradation and Bioremediation
of Pentachlorophenol** 991
K. Dercová, Z. Kyseřová, G. Barančíková,
Z. Sejáková, and A. Mařová**Electrochemical Biosensors
in Agricultural and Environmental
Analysis** 1003
R. Kizek, J. Vacek, L. Trnková, B. Klejdus,
and V. Kubáň**Selective Catalytic Reduction of NO_x
with Hydrocarbons on Zeolite
Catalysts** 1007
L. Čapek and B. Wichterlová**NOMENCLATURE AND TERMINOLOGY****IUPAC Recommendation** 1016
Terminology in Soil Sampling
(J. Kahovec)**LABORATORY EQUIPMENT AND METHODS****Stripping Voltammetric Determination
of Inorganic Antimony Species
in Natural Waters** 1017
D. Rúriková and L. Dziačková**Determination of CH₃Hg Groups in Fish
Muscle by HPLC with UV Detection** 1024
J. Špička, L. Svoboda, and D. Janoušková

**BULLETIN ČESKÝCH CHEMICKÝCH
SPOLEČNOSTÍ****BULLETIN OF THE CZECH CHEMICAL
SOCIETIES**

Grafické vyjádření chiralidy chemických sloučenin	1029	Graphic Representation of Chirality in Chemical Structures	1029
Ze života chemických společností	1034	From the Chemical Societies	1034
Členská oznámení a služby	1035	Member Services and Announcements	1035
Evropský koutek	1035	European Column	1035
Výuka chemie	1036	Chemistry Education	1036
Osobní zprávy	1036	Personal News	1036
Zákony, které ovlivní život chemiků	1038	Laws that could influence life of chemists	1038
Technické zajímavosti a služby	1039	Technical Information, Tips and Services	1039
Aprílový klub	1040	Club of Jokes	1040
Odborná setkání	1041	Meetings and Conferences	1041
Bulletin představuje	1044	Bulletin presents	1044
Volná místa	1044	Jobs	1044
Knihy	1044	Books	1044
Akce v ČR a v zahraničí	1045	Meetings Calendar	1045
Tisková zpráva	1045	Press Release	1045
Výročí a jubilea	1046	Anniversaries and Jubilees	1046

CHEMICKÉ LISTY • ročník/volume 97 (2003), čís./no. 10 • **LISTY CHEMICKÉ**, roč./vol. 127, **ČASOPIS PRO PRŮMYSL CHEMICKÝ**, roč./vol. 113 • ISSN 0009-2770, ISSN 1213-7103 (e-verze) • evidenční číslo MK ČR E 321 • Vydává Česká společnost chemická jako časopis Asociace českých chemických společností ve spolupráci s VŠCHT v Praze, s ČSPCH a ÚOCHB AV ČR za finanční podpory Nadace Český literární fond, kolektivních členů ČSCH a Ministerstva zemědělství České republiky • IČO 444715 • *Published by the Czech Chemical Society* • **VEDOUcí REDAKTOR/EDITOR-IN-CHIEF**: B. Kratochvíl • **REDAKTORŮI/EDITORS**: J. Barek, Z. Bělohav, P. Drašar, J. Hetflejš, P. Holý, P. Chuchvalec, J. Podešva, P. Rauch, J. Volke, M. Bláhová (Bulletin), M. Ferles (Bulletin), B. Valter (Bulletin), I. Valterová (Bulletin), R. Liboska (webové stránky), P. Zámstný (webové stránky) • **ZAHRAŇIČNÍ A OBLASTNÍ REDAKTORŮI/FOREIGN AND REGIONAL EDITORS**: F. Švec (USA), L. Opletal (Hradec Králové) • **KONZULTANT/CONSULTANT**: J. Kahovec • **VÝKONNÁ REDAKTORKA/EDITORIAL ASSISTANT**: R. Řápková • **REDAKČNÍ RADA/ADVISORY BOARD**: E. Borsig, M. Černá, L. Červený, E. Dibuszová, J. Hanika, Z. Havlas, J. Churáček, I. Kadlecová, J. Káš, J. Koubek, T. Míšek, J. Pacák, 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: mblahova@csvts.cz, simanek@csvts.cz • **PLNÁ VERZE NA INTERNETU/FULL VERSION ON URL**: <http://chemicke-listy.vscht.cz> • **TISK**: České Tiskárny s.r.o., Ráby 14, 533 52 Staré Hradiště; **SAZBA**: SF SOFT, Jinonická 329, 158 00 Praha 5, B. Valter (Bulletin) • **Copyright** © 2003 **Chemické listy/Česká společnost chemická** • Cena výtisku 125 Kč, roční plně předplatné 2003 (12 čísel) 1190 Kč, individuální členské předplatné pro členy ČSCH 630 Kč. Roční předplatné ve Slovenské republice 80 eur (doručování via SCHS), individuální členské předplatné pro členy ČSCH 60 eur (doručování via SCHS), 225 eur (individuální doručování) • **DISTRIBUTION ABROAD**: KUBON & SAGNER, POB 34 01 08, D-80328 Munich, FRG; *Annual subscription for 2003 (12 issues) 225 euro* • Podávání novinových zásilek povoleno ČP s.p. OZ VČ, č.j. PPI/5333/95 • *This journal has been registered with the Copyright Clearance Center, 2322 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923, USA, where the consent and conditions can be obtained for copying the articles for personal or internal use* • Pokyny pro autory najdete v čísle 1/2002 a na internetu, zkratky časopisů v čísle 10/97 na str. 911 • Chemické listy obsahující Bulletin jsou zasílány zdarma v rámci dohod o spolupráci významným představitelům české chemie a chemického průmyslu a do všech relevantních knihoven v ČR.