

## Milí kolegové z České společnosti chemické, milí čeští chemici,

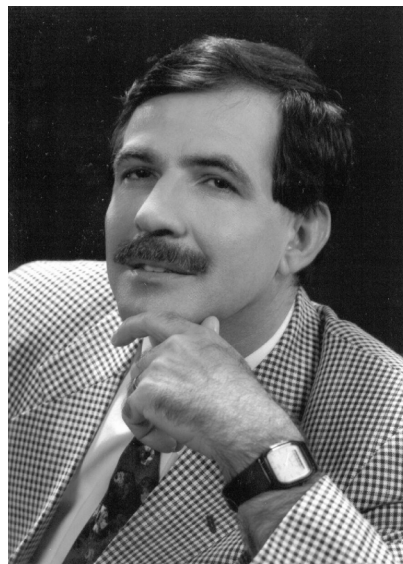
Slovinská chemická společnost nedávno oslavila 50. výročí svého založení, a tedy počátku své práce pro rozvoj vědy ve Slovinsku. V tomto úvodníku bych rád české chemiky seznámil s vývojem naší Společnosti během uplynulých padesáti let.

Společnost byla založena úzkým kroužkem slovinských chemiků, kteří se v roce 1951 rozhodli sdružit do profesní organizace. Důvody, uvedené v prvním písemném prohlášení, spočívaly v pozdvižení významu chemie a hledání jejích dalších aplikací v průmyslu a v zajišťování profesionálního růstu členů Společnosti. Ačkoliv tato předsevzetí byla již tehdy velmi náročná, Společnost je začala hned od počátku naplňovat velmi úspěšně. Vznikaly odborné sekce a místní pobočky a objevovala se též první krátká písemná sdělení, takže začal, víceméně pravidelně, vycházet *Journal of Slovenian Chemical Society*. Společnost a její sekce začaly organizovat přednášky, semináře a dokonce i mezinárodní konference; první z nich se konala v roce 1957 v Ljubljani a byla věnována vodíkové vazbě. Toto setkání bylo odborně velmi úspěšné a za zmínku stojí, že to byla první konference po druhé světové válce, kde se sešli významní teoretici ze Západu a Východu.

Zakládající členové Společnosti si přáli, aby hned od počátku byla Slovinská chemická společnost otevřená všem chemikům ve Slovinsku a rozvíjela se tak, aby měla pozitivní vliv na vývojové trendy v chemickém a příbuzném průmyslu, výzkumu a vzdělávání. Společnost měla být volným diskusním fórem, kde by chemici diskutovali o všech společných problémech, a ovlivňovali tak rozvoj chemie jako celku. Když se podíváme na výsledky, jakých Společnost dosáhla za uplynulých 50 let, můžeme být pyšní na úspěšné naplnění původních předsevzetí. Společnost se stala respektovaným a dobře organizovaným vědeckým sdružením, které dnes ve Slovinsku stimuluje vědecký vývoj a výzkum v oblastech čisté a aplikované chemie a chemického inženýrství, organizuje přednášky a odborná shromáždění, symposia a kongresy, vydává specializované publikace, zúčastňuje se formulování národních výzkumných a vývojových programů, spolupracuje a radí při tvorbě národních výukových chemických programů, spolupracuje se dvěma slovinskými univerzitami a dalšími akademickými institucemi a má vliv na mnoho dalších aktivit týkajících se obecné chemie.

Během vývoje Společnosti se její členové postupně rozdělili, pro lepší organizaci práce, podle oborů profesionálního zájmu do 10 sekcí, dvou výborů a dvou odvětví. Od roku 1995 Společnost pořádá každoroční odborné setkání nazvané „Slovinské chemické dny“, které organizuje Mariborská místní pobočka a sekce pro Chemickou a procesní technologii. Tohoto setkání se každoročně zúčastní více než 300 odborníků z akademické sféry, průmyslu a dalších oborů, kterým přednáší vybraní plenární a sekční přednášející ze Slovinska i ze zahraničí.

Jednou z nejdůležitějších aktivit Společnosti je vydávání časopisu *Acta Chimica Slovenica*. Tento spolkový časopis vychází nepřetržitě již 50 let, navzdory tomu, že opatrování nutných finančních prostředků vyžaduje velké úsilí, protože



Společnost je nevýdělečnou organizací. Časopis byl nejdříve vydáván pod názvem „*Vestnik slovenskega kemijskega društva*“, současný název má od roku 1993. V roce 1999 zařadil *Institute for Scientific Information* tento časopis do seznamu *Science Citation Index – Expanded* a od roku 2000 se *Acta Chimica Slovenica* zařadily mezi impaktované časopisy (pro rok 2001 měl tento časopis IF 0,5, pozn. překl.)

V prvních čtyřech dekáдах své existence byla Společnost napojena na mezinárodní komunitu prostřednictvím Asociace chemických společností Jugoslávie. Po rozdělení Jugoslávie v roce 1991 a následném osamostatnění Slovinska jako nezávislého a suverénního státu započala také Společnost svoji samostatnou integraci do mezinárodních chemických organizací. V roce 1992 se Společnost stala členem Federace evropských chemických společností a v roce 1993 členem Evropské federace chemického inženýrství. V témž roce byla také přijata do IUPACu. Společnost je také členem Mezinárodní krystalografické unie, Evropského krystalografického komitétu, Evropské polymerní federace, Evropské keramické společnosti a dalších sdružení. Tradičně bohaté jsou bilaterální kontakty s chemickými společnostmi sousedících států (Rakousko, Chorvatsko, Maďarsko a Itálie), dále s Českou a Slovenskou chemickou společností, Polskou a Německou chemickou společností, s Královskou chemickou společností a s Americkou chemickou společností.

Během uplynulých 50 let své existence se Společnost rozrostla z původních 200 členů na dnešní sdružení 1300 slovinských chemiků, chemických technologů a inženýrů. Mezi mnoha osobnostmi, které se zasloužily o úspěšný rozvoj Slovinské chemické společnosti, bezpochyby vyniká její zakladatel a první prezident prof. Samec, průkopník moderní chemie ve

Slovinsku, zakladatel Oddělení chemie na Univerzitě v Ljubljani a zakladatel a pozdější ředitel Národního chemického institutu. Významný byl i přínos následujících prezidentů Společnosti: prof. Modice, prof. Hadžiho a prof. Goliče. Jejich vědecký věhlas a organizační schopnosti přispěly rozhodující měrou k tomu, že původní vize Společnosti byly naplněny. Je mi ctí být jejich pokračovatelem v pozici pátého prezidenta Společnosti.

*Slovinská chemická společnost vstupuje do dalších let své*

*existence, její základní poslání však zůstává nezměněno. Podpora spolupráce mezi akademickou a průmyslovou sférou je stále hlavním úkolem Společnosti. Neméně důležité je, aby Společnost umožnila svým členům získávat špičkové chemické informace a neustále popularizovala chemii mezi mladými lidmi a získávala je pro chemickou kariéru; zvláště dnes, kdy veřejnost není chemii příliš příznivě nakloněna.*

Venčeslav Kaučič

#### Venčeslav Kaučič

*Vedoucí oddělení anorganické chemie Národního chemického institutu v Ljubljani, profesor chemie na Biotechnické fakultě na univerzitě v Ljubljani a na Škole environmentálních věd na polytechnice v Nové Gorici.*

*Jeho výzkumné zájmy zahrnují anorganickou chemii (syntéza a charakterizace fluoridů a fluorochalkogenidů přechodných kovů, syntéza a charakterizace zeolitových a aluminofosfátových molekulárních sítí, inkorporace atomů různých kovů do pozic Al a P v molekulárních sítích AlPO a SAPO) a krystalografii (řešení struktur koordinačních sloučenin monokrystalovou a práškovou RTG-difrakční technikou, využití synchrotronového záření pro krystalografické studie u aluminofosfátů – identifikace stopových množství kovů v sítích AlPO a SAPO metodou anomálního rozptylu). Je autorem nebo spoluautorem více než 80 vědeckých sdělení v impaktovaných časopisech a 10 kapitol v monografiích. Prezentoval okolo 100 příspěvků na konferencích. Od roku 1996 je prezidentem Slovinské chemické společnosti a členem mnoha mezinárodních vědeckých a profesních organizací. Za dosažené vědecké výsledky mu byla udělena Slovinská národní cena.*

*z angličtiny přeložil B. Kratochvíl*

Redakce časopisu

**Chemické  
listy**

uděluje cenu Karla Preise za rok 2002

**Josefu PACÁKOVÍ<sup>a</sup> a Miloslavu ČERNÉMU<sup>b</sup>**

<sup>a</sup>Katedra učitelství a didaktiky chemie a <sup>b</sup>Katedra organické chemie,  
Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova

za práci

***Deoxyfluorglukosa, mezník ve vývoji pozitronové emisní tomografie  
(historie jednoho výzkumu)***

Chem. Listy 96, 704 (2002)

SRDEČNĚ BLAHOPŘEJEME

# ODHADOVÉ METODY TEPELNÝCH KAPACIT ČISTÝCH KAPALIN

MILAN ZÁBRANSKÝ, VLASTIMIL RŮŽIČKA  
a ANATOL MALIJEVSKÝ

Ústav fyzikální chemie, Vysoká škola chemicko-technologická,  
Technická 5, 166 28 Praha 6  
e-mail: zabran@vscht.cz

Došlo dne 25.IV.2002

Klíčová slova: tepelná kapacita, odhadové metody, čistá látka,  
kapaliny

## Obsah

1. Úvod
2. Odhadové metody fyzikálně-chemických dat
  - 2.1. Metody založené na TKS
  - 2.2. Metody termodynamické
  - 2.3. Metody empirické
  - 2.4. Metody příspěvkové
    - 2.4.1. Příspěvky pro jedinou teplotu
    - 2.4.2. Příspěvky pro teplotní závislost
  - 2.5. Metody teoretické
3. Závěr

## 1. Úvod

Tepelné kapacity kapalných látek patří k nejdůležitějším přímo měřitelným termodynamickým veličinám potřebným jak k průmyslovým aplikacím (výpočet tepla nutného k ohřevu nebo ochlazení, závislost reakční entalpie na teplotě, extrapolace tlaků nasycených par pomocí simultánní korelace<sup>1</sup> směrem k teplotě tání apod.), tak k výpočtům týkajícím se molekulové struktury kapalin.

Kalorimetricky změřené tepelné kapacity organických i anorganických čistých kapalin s teplotou tání nižší než 300 °C jsou známy pro takřka 2000 látek<sup>2-4</sup>. Z nich však je asi jedna třetina stanovena pouze při jediné teplotě (většinou při 25 °C) nebo ve velmi úzkém teplotním intervalu a další část (asi 10 % látek) jsou buď měření velmi stará (provedená před rokem 1920) nebo značně nepřesná. Zbývá tak stále velké množství důležitých látek s dosud nezměřenými nebo nepřesnými tepelnými kapacitami. Mezi nimi jsou i látky vyráběné průmyslově ve velkých množstvích, nebo ohrožující svou přítomností životní prostředí<sup>5</sup>. Chybějící tepelné kapacity je možné vypočítat pomocí některé z existujících odhadových metod.

První metody odhadu tepelných kapacit kapalin pocházejí již z předminulého století a v dnešní době jejich počet, včetně různých modifikací, přesahuje přinejmenším číslo 50. Převážná většina z nich umožňuje výpočet izobarické tepelné kapacity, definované vztahem  $C_p = (\partial H / \partial T)_p$ , která je potřebná pro většinu výpočtů. Pokud se teploty blíží normální teplotě

varu, pak jsou měřeny tepelné kapacity na křivce nasycení  $C_\sigma = T(\partial S / \partial T)_\sigma$ . Definice jiných používaných tepelných kapacit a jejich vzájemné vztahy lze nalézt např. v monografii Reida a spol.<sup>6</sup> nebo v článku Zábranského a Majera<sup>7</sup>. V dalším je uveden přehled metod rozdělených podle principu odhadu. Ze současné nabídky metod jsou uvedeny ty, které byly historicky první, dále pak metody nejužívanější a praxí ověřené i některé zajímavé, ale méně známé, a také ty, které byly publikovány v poslední době.

## 2. Odhadové metody fyzikálně-chemických dat

Všechny odhadové metody lze rozdělit podle druhu požadovaných vstupních údajů na dvě velké skupiny, QPPR a QPSR.

Metody QPPR (quantity-property-property-relationship) vyžadují pro odhad dané fyzikálně-chemické vlastnosti znalost některé jiné její fyzikálně-chemické vlastnosti. Sem patří metody založené na teorému korespondujících stavů (TKS), metody termodynamické a metody empirické. Zatímco empirické metody udávají přímo vztah pro tepelnou kapacitu, prvé dvě metody jsou většinou formulovány tak, že umožňují výpočet rozdílu tepelných kapacit kapaliny  $C_p^1$  a ideálního plynu  $C_p^{\text{go}}$

$$\Delta C = C_p^1 - C_p^{\text{go}} \quad (1)$$

který lze exaktně termodynamicky vyjádřit

$$\Delta C = -R - T \int_V^\infty \left[ \left( \frac{\partial^2 p}{\partial T^2} \right)_V \right] dV - T \left( \frac{\partial p}{\partial T} \right)_V^2 / \left( \frac{\partial p}{\partial V} \right)_T \quad (2)$$

kde  $R$  je univerzální plynová konstanta. Izobarickou tepelnou kapacitu ideálního plynu je možné nalézt buď v tabulkách<sup>8</sup> nebo odhadnout Bensonovou příspěvkovou metodou<sup>9</sup>, případně některou její modifikací<sup>10</sup>.

Metody QSPR (quantity-structure-property-relationship) vycházejí pouze ze znalosti struktury odhadované látky, bez potřeby znalosti jejích fyzikálně-chemických vlastností. Do této skupiny lze zařadit metody příspěvkové a metody teoretické, využívající statistickou termodynamiku a kvantovou chemii.

### 2.1. Metody založené na TKS

Teorém korespondujících stavů (TKS) předpokládá, že látky mající stejnou redukovanou teplotu  $T_r = T / T_k$  a stejný redukováný tlak  $p_r = p / p_k$  (kde  $T_k$  a  $p_k$  jsou kritická teplota a tlak) mají i podobné chování. Na základě tohoto předpokladu navrhli Sakiadis a Coates<sup>11</sup> jednu z prvních metod pracujících s grafickým vyhodnocením příspěvků na jednotlivé vazby v závislosti na redukované teplotě. Díky tomu, že metoda byla

použitelná pouze pro uhlovodíky, autory uváděná přesnost se pohybovala okolo 1 %.

Rowlinson<sup>12</sup> jako první odvodil na základě molekulární teorie kapalin vztah, jehož konečnou formu navrhl Bondi<sup>13</sup> a nejnovější vydání knihy Polinga a spol.<sup>14</sup> ji uvádí v bezrozměrném tvaru:

$$\Delta C_p / R = 1,586 + 0,49 / (1 - T_r) + \omega [4,2775 + 6,3(1 - T_r)^{1/3} / T_r + 0,4355 / (1 - T_r)] \quad (3)$$

kde  $\omega$  je acentrický faktor definovaný Pitzerem jako

$$\omega = -\log(p_{0,7} / p_k) - 1 \quad (4)$$

kde  $p_{0,7}$  je tlak nasycených par čisté látky při  $T = 0,7 T_k$ . V práci<sup>13</sup> je uvedena také podobná a zjednodušená rovnice Sterlinga a Browna. Oba jednoduché vztahy, kde vystupují jen kritické veličiny a acentrický faktor, jsou spolehlivé pouze pro nepolární látky v teplotním rozsahu  $0,4 \leq T_r \leq 1$  s průměrnou chybou okolo 4 %. Morad a spol.<sup>15</sup> ověřovali rovnici (3) na vyšších triacylglycerolech, u kterých zároveň měřili tepelné kapacity, a uvádějí průměrnou relativní odchylku odhadnutých a experimentálních dat  $\pm 5$  %.

Yuan a Stiel<sup>16</sup> odvodili dva vztahy za předpokladu, že  $\Delta C_\sigma$  (definované obdobně jako  $\Delta C_p$  rovnicí (1)) lze rozvést pomocí Taylorovy řady, kde vyšší členy je možné zanedbat. Pro nepolární kapaliny navrhli rovnici se dvěma členy

$$\Delta C_\sigma = \Delta C_\sigma^{(0)} + \omega \Delta C_\sigma^{(1)} \quad (5)$$

a pro polární kapaliny použili šest členů

$$\Delta C_\sigma = \Delta C_\sigma^{(0)} + \omega \Delta C_\sigma^{(1)} + X \Delta C_\sigma^{(2)} + X^2 \Delta C_\sigma^{(3)} + \omega^2 \Delta C_\sigma^{(4)} + \omega X \Delta C_\sigma^{(5)} \quad (6)$$

kde  $X$  je čtvrtý parametr, nazývaný Stielův polární faktor definovaný rovnicí (7):

$$X = (\log p_r)_{T_r=0,6} + 1,70\omega + 1,552 \quad (7)$$

V jejich práci jsou tabelovány jednotlivé členy  $\Delta C_\sigma^{(i)}$  z rovnic (5) a (6) v závislosti na redukované teplotě  $T_r \in (0,4 + 0,96)$ . Rovnice (6) pro polární látky patří k nejlepším z navržených metod, což se dá očekávat vzhledem k většímu počtu užitých parametrů, když chyba mezi naměřenou a odhadnutou hodnotou se pohybuje mezi 1 až 4 %.

Filippov<sup>17</sup> navrhl vztah platný do  $T_r = 0,95$ , kde vedle redukované teploty a kritického objemu vystupují také meziatomové vzdálenosti v molekule; jejich hodnota je ale u složitějších molekul prakticky nezjistitelná a tabulace není zcela běžná.

Čtyřparametrový TKS použili Lyman a Danner<sup>18</sup>, kteří vedle redukovaných veličin zavedli gyrační poloměr  $R_g$ , stanovený z molekulové struktury a asociační faktor  $\kappa$  vypočtený z kritických veličin, normální teploty varu a gyračního poloměru. Oba přidané parametry jsou poměrně obtížně stanovitelné a v práci Lymana a Danner je lze nalézt pro 250 látek.

Navržená rovnice pro  $\Delta C_\sigma$  má celkem 13 koeficientů v intervalu  $T_r \in (0,35 + 0,96)$ . Pro nepolární látky poskytuje velmi dobré výsledky s chybou okolo 2 %, pro polární je chyba asi 5 %, ale stává se pro ně nespolehlivou při  $T_r > 0,7$ , kde nebyl v době návržení metody dostatek spolehlivých experimentálních dat pro výpočet koeficientů. Nahrazení asociačního faktoru  $\kappa$  parametrem  $\Phi$  získaným z druhého viriálního koeficientu a zjednodušení výpočtu při stejné přesnosti navrhli Tarakad a Danner<sup>19</sup>.

Lee s Keslerem<sup>20</sup> navrhli generalizovanou termodynamickou korelaci založenou na tříparametrovém TKS, kde třetím parametrem byl acentrický faktor  $\omega$  definovaný rovnicí (4). Pro výpočet konstant použili modifikovanou Benedictovu-Webovu-Rubinovu (BWR) stavovou rovnici a pomocí p-V-T dat získali dvě sady 12 konstant pro jednoduché nepolární kapaliny s  $\omega = 0$  a pro referenční kapaliny z údajů pro oktan s  $\omega = 0,3978$ . Jejich metoda dovoluje vypočítat vedle rozdílů izobarické a izochorické tepelné kapacity, entalpie a entropie (vše mezi reálnou tekutinou a ideálním plynem) také fugacitní koeficient. Je možná i predikce termodynamických vlastností včetně tepelné kapacity v závislosti na tlaku a výpočet termodynamických vlastností pro směsi. Metoda je spolehlivá pro nepolární látky až do vysokých redukovaných teplot blízcích se 1 a pro  $p_r = 6$ .

Prasad a spol.<sup>21</sup> vyšli z TKS a vliv struktury odhadované látky vyjádřili pomocí molární refrakce  $R_M$  [ $\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ ]. Pro nepolární kapaliny navrhli jednoduchý vztah výpočtu tepelné kapacity [ $\text{J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ ] podél křivky nasycení:

$$C_\sigma = R_M [5,4571 - 0,3098 / (T_r - 1)] \quad (8)$$

Metoda je použitelná také pro směsi, a pokud se použije modifikovaný  $R_{MP}$  pro jehož výpočet je nutná znalost molární polarizace a kritického tlaku, i kapaliny polární. Průměrná chyba odhadu pro 26 čistých látek udávaná autory je 4 %.

## 2.2. Metody termodynamické

Jeden z možných přístupů využívá skutečnosti, že rozdíl molárních tepelných kapacit  $\Delta C_\sigma$  je v přímém vztahu k teplotní derivaci výparné entalpie  $\Delta H_{\text{vyp}}$  podél křivky nasycení. První odvození provedl Watson<sup>22</sup>, který získal vztah

$$\Delta C_\sigma = -(\partial \Delta H_{\text{vyp}} / \partial T)_\sigma - [\partial (H^{\text{so}} - H^{\text{g}}) / \partial T]_\sigma \quad (9)$$

kde druhý člen představuje změnu rozdílu entalpie ideální a reálné páry s teplotou. Modifikace metody se liší podle toho, jak různí autoři<sup>23-27</sup> navrhli vypočítat první a druhý člen pravé strany rovnice (9). V některých případech se používá k jejich odhadu i TKS, ale celkově je metoda podle svého odvození řazena k termodynamickým. Další z modifikací metody navržená Tyagim<sup>28</sup> se setkala s ostrou kritikou a není běžně používána.

Z analýzy jednotlivých členů rovnice (9) plyne, že největším zdrojem chyb je teplotní derivace výparné entalpie, zvláště pod pokojovou teplotou, zatímco horní hranicí použitelnosti je  $T_r = 0,85$ . Její přesnost odpovídá přesnosti dat použitých k výpočtu jednotlivých členů rovnice. Hlavní využití metody je v oblastech nad normální teplotou varu, kde je experimentálně změřena tepelná kapacita jen pro velmi malé množství látek a většinu odhadových metod zde nelze použít.

Další možnost odhadu poskytuje rovnice (2), kde se derivace vypočtou z vhodné stavové rovnice. Coniglio a spol.<sup>29</sup> použili Pengovu-Robinsonovu modifikovanou stavovou rovnici<sup>30</sup>, která vyžaduje znalost normální teploty varu, „pseudobjemu“ molekul (angl. pseudocovolume) a rozměrový parametr molekuly. Oba poslední parametry lze vypočítat Bondiho příspěvkovou metodou<sup>31</sup>. V práci<sup>29</sup> jsou tyto příspěvky umožňující odhad tlaku nasycených par, hustoty, výparné entalpie a tepelné kapacity uvedeny pro uhlovodíky vyskytující se v ropě. Zatímco přesnost odhadu prvních dvou veličin je velmi dobrá a u výparných entalpií uspokojivá, pohybují se chyby odhadu tepelných kapacit od 1 do 10 %, což je pochopitelné vzhledem k citlivosti druhé derivace v rovnici (2) na vstupní data. Podobně postupovali Illoukani a Nikoobakht<sup>32</sup> kteří ověřovali na uhlovodících a heterocyklických sloučeninách pět stavových rovnic. Nejlepší výsledky jim poskytla aplikace Schmidovy-Wenzelovy stavové rovnice<sup>33</sup>.

### 2.3. Metody empirické

Chow a Bright<sup>34</sup> navrhli počítat tepelnou kapacitu  $C$  (autoři neuvádějí typ tepelné kapacity) z parachoru  $[P]$  a molární refrakce  $R_M$  podle vztahu

$$C = ([P] + B) / (AR_M) \quad (10)$$

kde  $A$ ,  $B$  jsou konstanty charakteristické pro jednotlivé homologické řady organických látek (parafiny, alkoholy, kyseliny apod.), které ve své práci uvádějí. Vzhledem k „nastaveným“ konstantám  $A$  a  $B$  se pohybuje průměrná chyba okolo 2 %. Protože parachor i molární refrakce jsou aditivní veličiny pro atomární a strukturální příspěvky a jsou tabelovány, je možné vypočítat tepelnou kapacitu bez jediného experimentálního údaje a v tomto případě považovat metodu za příspěvkovou. Pro výpočet závislosti tepelné kapacity na teplotě a tlaku navrhli autoři rovnici (11); přepočet pomocí Watsonova expanzního faktoru  $\omega_w$ , který je funkcí redukované teploty a tlaku:

$$C\omega_w^a = b \quad (11)$$

kde  $a$ ,  $b$  jsou konstanty pro jednotlivé homologické řady.

Práce Riaziho a Roomiho<sup>35</sup> uvádí řadu vztahů pro odhad termodynamických a transportních vlastností rovněž z indexu lomu světla a pro teplotní závislosti  $C_p$  jednotlivých skupin uhlovodíků udává vždy sadu čtyř konstant s průměrnou chybou odhadu 2 %. Tyto vlastnosti lze odhadnout i pro směsi nedefinovaného složení vyskytující se v ropě.

### 2.4. Metody příspěvkové

Příspěvkové odhadové metody dovolují vypočítat tepelnou kapacitu látky pouze ze znalosti její struktury. Koncept vzájemného vztahu molekulární struktury a makroskopické vlastnosti vede k předpokladu aditivnosti strukturálních příspěvků. Vlastnost látky se tak vypočte sumací všech příspěvků násobených jejich počtem v molekule. Podle toho, jaká strukturální jednotka je zvolena za základ, lze rozdělit metody do tří skupin:

- metody nultého řádu pracují s aditivitou atomárních příspěvků nezávislých na vzájemných vazbách. Toto však

neplatí pro látky s atomy uspořádanými do kruhu (cyklické či aromatické uhlovodíky), kdy kruhový fragment musí být považován za dále nedělitelnou jednotku,

- metody prvního řádu pracují s aditivitou vazeb mezi sousedními atomy. Analogicky k aproximaci nultého řádu i pro metody prvního řádu musí být cyklické fragmenty považovány za jedinečné strukturální jednotky,
- metody druhého řádu pracují s aditivitou skupin, kde skupina je definována jako polyvalentní centrální atom spolu se všemi ligandy.

Je zřejmé, že metody druhého řádu jsou nejlepší aproximací reality, poněvadž berou zřetel na strukturální jednotku i na vazby, jimiž je skupina vázána do celé molekuly, a jsou proto v současnosti nejpoužívanější. Marrero a Gani<sup>36</sup>, jejichž metoda dovoluje odhadnout devět vlastností čistých organických látek (ne však tepelné kapacity), zavádějí ještě další příspěvky na konfiguraci (*cis*- a *trans*-), na vzájemnou polohu dvou substituentů na cyklických sloučeninách, nebo na různé druhy společných uhlíků v kondenzovaných aromatických a alicyklických sloučeninách.

Dalším kritériem při popisu odhadových příspěvkových metod může být teplotní závislost příspěvků:

- jsou dány při jediné teplotě (nejčastěji při 20 °C nebo 25 °C),
- jsou dány při více teplotách, nebo jsou známy jako funkce teploty.

#### 2.4.1. Příspěvky pro jedinou teplotu

Mezi nejstarší odhadové metody patří tzv. Koppovo pravidlo (z roku 1844), podle kterého se tepelná kapacita látky vypočte sečtením atomárních příspěvků násobených počtem atomů v molekule. Příspěvky pro několik nejběžnějších prvků při 20 °C lze nalézt např. v článku Gambilla<sup>37</sup>, který uvádí průměrnou chybu odhadu okolo 30 až 40 %. Nové příspěvky pro 8 prvků a jeden příspěvek „univerzální“ pro všechny ostatní atomy při 25 °C vypočetli ze 477 bodů Hurst a Harrison<sup>38</sup> s jimi udávanou chybou odhadnuté tepelné kapacity 8,8 %. Tato metoda nultého řádu má význam jen v případech, kdy je známý pouze sumární vzorec látky, nebo nejsou známy příspěvky pro některé funkční skupiny.

Z prací, které lze zařadit do skupiny metod prvního řádu<sup>39,40</sup>, je nejcitovanější Shawova<sup>40</sup>, v níž jsou vypočteny příspěvky pro 63 skupin při 25 °C. Autor udává při hodnocení své metody průměrný rozdíl mezi experimentální a odhadnutou hodnotou 6,3 J.mol<sup>-1</sup>.K<sup>-1</sup>. Jde vesměs o odhady izobarických tepelných kapacit, i když v některých pracích to není explicitně uvedeno. Ojedinelou je práce Ogiwary a spol.<sup>41</sup>, kteří publikovali dvanáct příspěvků pro výpočet izochorické tepelné kapacity kapalných organických látek.

Poněkud jiný přístup zvolili Pachaiyappan a spol.<sup>42</sup>, kteří místo příspěvků pro jednotlivé strukturální skupiny navrhli odhad pomocí rovnice závislosti tepelné kapacity  $C_p$  na molární hmotnosti  $M$

$$C_p = CM^n \quad (12)$$

kde  $C$  a  $n$  jsou konstanty charakteristické pro jednotlivé homologické skupiny (alkoholy, ketony, kyseliny, aminy apod.), ve kterých jsou vlastně zahrnuty strukturální příspěvky. Autoři uvádějí konstanty pro 9 homologických skupin; podle nich nepřesahuje chyba odhadu, až na několik výjimek, 5 %.

Metodu druhého řádu, která zohledňuje i interakce s nejbližšími sousedy uvažované skupiny, zavedl Benson se spolupracovníky pro odhad termodynamických veličin ideálního plynu<sup>8,43</sup>. Jejich postup, aplikovaný na uhlovodíky v plynném, kapalném a pevném stavu, použili Domalski a Hearing<sup>44</sup>, kteří pro tepelnou kapacitu v kapalně fázi při 25 °C vypočetli 48 strukturálních příspěvků. Průměrná odchylka mezi odhadnutými a experimentálními tepelnými kapacitami pro 390 srovnávaných látek činila 1,9 J.mol<sup>-1</sup>.K<sup>-1</sup>.

#### 2.4.2. Příspěvky při více teplotách a teplotně závislé

První známý pokus vypočítat příspěvky pro 6 diskretních teplot od –25 °C do 100 °C s krokem 25 °C uskutečnil Misserand<sup>45,46</sup>. Při použití jeho 24 příspěvků prvního řádu je chyba odhadu menší než 5 %.

Teplotně závislé příspěvky druhého řádu, zavedené dříve pro ideální plyn<sup>43</sup>, rozšířili Luria a Benson<sup>47</sup> také pro kapalně uhlovodíky. Autoři uvádějí 33 skupinových příspěvků v závislosti na teplotě ve formě kubického polynomu (teplotní interval platnosti odpovídá intervalu experimentálních dat) a jimi udávaná standardní odchylka  $C_p$  pro 117 ověřovaných uhlovodíků činí 3,3 J.mol<sup>-1</sup>.K<sup>-1</sup>.

Doposud nejrozsáhlejší práci, užívající metodu druhého řádu a kvadratický polynom pro teplotní závislost  $C_p$ , publikovali Růžička a Domalski<sup>48,49</sup>. Z doporučených tepelných kapacit<sup>2,3</sup> pro 333 kapalných organických látek obsahujících prvky C, H, N, O, S a halogeny autoři vypočetli 149 příspěvků s průměrnou odchylkou 2,9 % v celém teplotním intervalu platnosti příspěvků. Pro srovnání použili často citovanou metodu Lee a Keslera<sup>19</sup> (viz odd. 2.1.), u které pro 173 látek vychází průměrná odchylka 7,8 %, zatímco pro jejich příspěvkův metodu 2,8 %.

Je zřejmé, že pro vytvoření takového množství teplotně závislých příspěvků musí mít autoři k dispozici rozsáhlou databázi s kriticky vyhodnocenými teplotními závislostmi tepelných kapacit. Je proto daleko častější, že jsou publikovány příspěvky jen pro menší okruhy látek, což bývají nejčastěji uhlovodíky, jako tomu bylo u Lurii a Bersona<sup>47</sup>, Akhmedova<sup>50</sup> nebo Haddena<sup>51</sup> a Sokolova<sup>52</sup>, kteří užívají závislost na redukované teplotě, kterou lze případně také odhadnout. Byly publikovány sady příspěvků přímo určené pro látky vyskytující se v určitých průmyslových odvětvích: např. Le a Allen<sup>53</sup> pro produkty zkapaňování uhlí, Phillips a Mattamal<sup>54</sup> pro estery vyšších mastných kyselin používaných v tukařském průmyslu nebo Jin a Wunderlich<sup>55</sup> pro vysokomolekulární *n*-alkany.

#### 2.5. Teoretické metody

Metody diskutované v předcházejících oddílech jsou obecně řečeno založeny na generalizaci experimentálních dat. Předností statistické termodynamiky je skutečnost, že buď spoléhá jen na data potřebná k nastavení konstant párových, případně tříčásticových mezimolekulárních potenciálů, nebo se ve spolupráci s metodami kvantové chemie bez dat zcela obejde.

V následujících odstavcích se pokusíme stručně nastínit současné možnosti statistické termodynamiky. Podrobnější informace lze najít např. v některé z českých monografií<sup>56,57</sup>. Cílem statistické termodynamiky je výpočet termodynamických veličin na základě znalostí sil působících mezi molekula-

mi. Nejjednodušším případem je model ideálního plynu, kde na sebe částice vůbec nepůsobí. Proto můžeme vyjádřit energii molekuly jako součet energie translačního pohybu, rotací, vibrací a případně excitací elektronů. Tepelné kapacity můžeme vyjádřit také jako součty uvedených příspěvků a počítat je ze znalostí geometrie molekuly (délek vazeb a úhlů mezi nimi) a základních frekvencí vibrací vazeb. Tyto výpočty se provádějí rutinně a výsledky jsou ve výborné shodě s experimentem. Výborná situace je rovněž u opačného extrému, krystalu za nízkých teplot, kde se používá Einsteinův nebo Debyeův model včetně jejich rozšíření.

Určování termodynamických veličin kapalin je mnohem obtížnější a je předmětem intenzivního výzkumu. Prostředky, které používá statistická termodynamika kapalin, lze rozdělit do dvou skupin: na počítačové simulace a na teoretické postupy. Simulace se provádějí metodou Monte Carlo nebo metodou molekulové dynamiky. Tyto metody mají řadu rysů charakteristických pro experimenty, a bývají proto označovány jako pseudoexperimenty. Jsou poměrně náročné na výpočetní čas, neobsahují však žádné aproximace. Soudobé teoretické postupy lze dělit do dvou hlavních skupin: na poruchové metody a na teorie integrálních rovnic. V poruchových metodách se volí tzv. referenční systém, jehož vlastnosti jsou známy. Termodynamické veličiny se pak počítají jako odchylky od referenčního systému. Teorie integrálních rovnic jsou založeny na vztazích mezi korelačními funkcemi, popisujícími vnitřní strukturu termodynamického systému.

Vedle vývoje nových účinných teoretických metod se zde naráží na jiný závažný problém. Tím je dosud nedostatečná kvantitativní znalost mezimolekulárních sil. Zde se statistická termodynamika snaží spolupracovat s kvantovou chemií. U jednoduchých systémů již bylo dosaženo pozoruhodných výsledků. Z hlediska chemicko-inženýrských aplikací jsou však nejzajímavější látky tvořené složitějšími molekulami, kde zpravidla chybějí experimentální data. Pro tyto systémy neumí statistická termodynamika nyní, a patrně ani v blízkém časovém horizontu, poskytovat kvantitativně přesné výpočty.

### 3. Závěr

Z uvedeného přehledu odhadových metod je zřejmé, že žádná z nich nemá zcela univerzální použití: buď mohou chybět potřebná vstupní fyzikálně-chemická data o látce, nebo nejsou k dispozici potřebné strukturální příspěvky. Vývoj metod patřících do skupiny QPPR byl prakticky ukončen v sedmdesátých letech minulého století. V novějších pracích už šlo jen o drobné úpravy nebo o změny vypočtených konstant. Se zpřesňováním a rozšiřováním použitelnosti příspěvkových metod jsou metody ze skupiny QPPR stále méně používány. Některé metody založené na TKS a metody termodynamické si však zachovávají svůj význam pro odhad tepelných kapacit několika prvních členů homologických řad (příspěvkové metody pro ně obvykle nelze použít) a pro odhad při vyšších teplotách až do blízkosti kritické teploty. V posledních letech je často používána termodynamická metoda využívající rovnici (2), pro kterou se potřebné derivace vypočtou ze stavových rovnic, což je vhodné pro látky se spolehlivou znalostí kritických veličin a acentrického faktoru.

Nejpoužívanějšími odhadovými metodami pro tepelné ka-

pacitě kapalin, ale i plynů a pevných látek, jsou v současnosti metody příspěvkové. Jejich výběr se řídí druhem látky a požadavkem na odhadovanou veličinu. V nejbližší budoucnosti lze očekávat, v souvislosti s rostoucím počtem přesnějších naměřených dat, že poroste i počet a kvalita nově vypočtených příspěvků.

Obecně lze pro všechny metody konstatovat, že nejlepší výsledky lze získat pro nepolární látky, zatímco pro látky polární jsou dosažené výsledky horší. Tomu odpovídají i uváděné odchylky od experimentálně zjištěných hodnot, které jsou vždy největší u alkoholů, kyselin a jiných silně polárních látek. Je také pochopitelné, že lepší výsledky poskytují metody určené jen pro určité homologické řady (a s konstantami vypočtenými pro stejné homologické řady), nežli metody určené pro široké spektrum látek. Problematické bývá autorovo hodnocení přesnosti metody, protože je většinou provádí na stejných látkách, které byly použity při výpočtu parametrů jeho metody.

Pokud jde o metody teoretické, o kterých jsme se zmínili jen rámcově vzhledem k náročnosti na teoretický podklad a potřebný matematický aparát, je jejich současné použití omezeno pouze na jednoduché modelové kapaliny. S rozvojem statistické termodynamiky a kvantové chemie spolu s výpočetní technikou budou tyto metody stále více nahrazovat ostatní odhadové metody (viz workshop při příležitosti PPEPPD konference v Kurashiki<sup>58</sup>).

*Tato práce vznikla za finanční podpory grantu č. CB MSM 223400008.*

#### LITERATURA

- Růžička K., Majer V.: *AICHe J.* 42, 1723 (1996).
- Zábranský M., Růžička V., Jr., Majer V., Domalski E. S.: *Heat Capacity of Liquids: Volume I and II. Critical Review and Recommended Values.* J. Phys. Chem. Ref. Data, Monograph No. 6, 1996.
- Zábranský M., Růžička V., Jr., Majer V., Domalski E. S.: *J. Phys. Chem. Ref. Data* 30, 441 (2001).
- Zábranský M., Růžička V., Jr., Domalski E. S.: *J. Phys. Chem. Ref. Data* 30, 1199 (2001).
- Zábranský M., Růžička V.: *Fluid Phase Equilib.* 194–197, 817 (2002).
- Reid R. C., Prausnitz J. M., Sherwood T. K.: *The Properties of Gases and Liquids*, 3. vyd. McGraw-Hill, New York 1977.
- Zábranský M., Majer V.: *Chem. Listy* 84, 1239 (1990).
- Frenkel M. L., Kabo G. J., Marsh K. N., Roganov G. N., Wilhoit R. C.: *Thermodynamics of Organic Compounds in the Gas State.* TRC, College Station 1994.
- Benson S. W., Cruickshank F. R., Golden D. M., Haugen G. R., O'Neal H. E., Rodgers A. S., Shaw R., Walsh R.: *Chem. Rev. (Washington, D.C.)* 69, 279 (1969).
- Bureš M., Majer V., Zábranský M.: *Chem. Eng. Sci.* 36, 529 (1981).
- Sakiadis B. C., Coates J.: *AICHe J.* 2, 88 (1956).
- Rowlinson J. S.: *Liquids and Liquids Mixtures*, 1. vyd. Butterworth, London 1959.
- Bondi A.: *Ind. Eng. Chem. Fundam.* 5, 443 (1966).
- Poling B. E., Prausnitz J. M., O'Connell J. P.: *The Properties of Gases and Liquids*, 5. vyd. McGraw-Hill, New York 2001.
- Morad N. A., Mustafa Kamal A. A., Panau F., Yew T. W.: *J. Am. Oil Chem. Soc.* 77, 1001 (2000).
- Yuan T.-F., Stiel L. I.: *Ind. Eng. Chem. Fundam.* 9, 393 (1970).
- Filippov L. P.: *Vestn. Mosk. Univ., Ser. 3: Fiz., Astron.* 20(3), 87 (1979).
- Lyman T. J., Danner R. P.: *AICHe J.* 22, 759 (1976).
- Tarakad R. R., Danner R. P.: *AICHe J.* 23, 944 (1977).
- Lee B. I., Kesler M. G.: *AICHe J.* 21, 510 (1975).
- Prasad T. E. V., Rajiah A., Prasad D. H. L.: *Chem. Eng. J.* 52, 31 (1993).
- Watson K. M.: *Ind. Eng. Chem.* 35, 398 (1943).
- Chueh C. F., Swanson A. C.: *Can. J. Chem. Eng.* 51, 596 (1973).
- Chueh C. F., Swanson A. C.: *Chem. Eng. Prog.* 69(7), 83 (1973).
- Reid R. C., Sobel J. E.: *Ind. Eng. Chem. Fundam.* 4, 328 (1965).
- Svoboda V., Wagner Z., Voňka P., Pick J.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* 46, 2446 (1981).
- Zhao X., Liu Z., Wang W., Chen Z.: *Gongcheng Rewuli Xuebao* 17, 17 (1996); *Chem. Abstr.* 124, 353937 (1996).
- Tyagi K. P.: *Ind. Eng. Chem. Process Des. Dev.* 14, 484 (1975).
- Coniglio L., Rauzy E., Berro C.: *Fluid Phase Equilib.* 87, 53 (1993).
- Carrier B., Rogalski M., Péneloux A.: *Ind. Eng. Chem. Res.* 29, 659 (1990).
- Bondi A.: *J. Phys. Chem.* 68, 441 (1964).
- Illoukani H., Nikoobakht B.: *Indian J. Chem., Sect. A: Inorg., Bio-inorg., Phys., Theor. Anal. Chem.* 38, 1264 (1999).
- Schmidt G., Wenzel H.: *Chem. Eng. Sci.* 35, 1503 (1980).
- Chow W. M., Bright J. A., Jr.: *Chem. Eng. Prog.* 49, 175 (1953).
- Riazi M. R., Roomi Y. A.: *Ind. Eng. Chem. Res.* 40, 1975 (2001).
- Marrero J., Gani R.: *Fluid Phase Equilib.* 183–184, 183 (2001).
- Gambill W. R.: *Chem. Eng.* 64, 263 (1957).
- Hurst J. E., Jr., Harrison B. K.: *Chem. Eng. Commun.* 112, 21 (1992).
- Johnson A. I., Huang C.-J.: *Can. J. Technol.* 33, 421 (1955).
- Shaw R.: *J. Chem. Eng. Data* 14, 461 (1969).
- Ogiwara K., Arai Y., Saito S.: *J. Chem. Eng. Jpn.* 14, 156 (1981).
- Pachaiyappan V., Ibrahim S. H., Kuloor N. R.: *Chem. Eng. (N.Y.)* 74(21), 241 (1967).
- Benson S. W., Buss J. H.: *J. Chem. Phys.* 29, 546 (1958).
- Domalski E. S., Hearing E. D.: *J. Phys. Chem. Ref. Data* 17, 1637 (1988).
- Missenard F.-A.: *C. R. Hebd. Seances Acad. Sci.* 260, 5521 (1965).
- Missenard F.-A.: *Rev. Gen. Therm.* 5(52), 337 (1966).
- Luria M., Benson S. W.: *J. Chem. Eng. Data* 22, 90 (1977).
- Růžička V., Jr., Domalski E. S.: *J. Phys. Chem. Ref. Data* 22, 597 (1993).
- Růžička V., Jr., Domalski E. S.: *J. Phys. Chem. Ref. Data* 22, 619 (1993).

50. Akhmedov A. G.: Zh. Fiz. Khim. 53, 2387 (1979).
51. Hadden S. T.: J. Chem. Eng. Data 15, 92 (1970).
52. Sokolov S. N.: Zh. Fiz. Khim. 53, 2089 (1979).
53. Le T. T., Allen D. T.: Fuel 64, 1754 (1985).
54. Phillips J. C., Mattamal M. M.: J. Chem. Eng. Data 21, 228 (1976).
55. Jin Y., Wunderlich B.: J. Phys. Chem. 95, 9000 (1991).
56. Malijevský A., Labík S., Sýs J., Pick J.: *Molekulární teorie jednoduchých tekutin a její aplikace*. Academia, Praha 1985.
57. Boublík T.: *Statistická termodynamika*. Academia, Praha 1996.
58. Ohe S.: *9th International Conference on Properties Phase Equilibria for Product and Process Design, Kurashiki, 20–25 May 2001*. Book of Abstracts, str. 169.

**M. Zábranský, V. Růžička, and A. Malijevský** (*Department of Physical Chemistry, Institute of Chemical Technology, Prague*): **Estimation Methods for Heat Capacity of Liquids**

A review is presented on most frequently used estimation methods for heat capacity of liquids. The methods are divided into two groups, QPPR and QSPR methods. For the estimation, QPPR methods require some physico-chemical properties of a compound to be known whereas QSPR methods are based on the knowledge of its molecular structure. QPPR methods, divided into methods based on the corresponding states principle, thermodynamic and empirical methods, are shortly discussed. Group contribution methods belonging to QSPRs are given in more detail and those based on statistical thermodynamics and quantum chemistry are briefly mentioned.



# VYSOKOTEPLTNÍ PALIVOVÉ ČLÁNKY, VHODNÁ PALIVA A MOŽNOSTI JEJICH VYUŽITÍ

KAREL SVOBODA, MILOSLAV HARTMAN,  
OTAKAR TRNKA a JIŘÍ ČERMÁK

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

Došlo dne 1.II.2002

Klíčová slova: vysokoteplotní palivové články, paliva, hybridní energetické systémy

## Obsah

1. Úvod
2. Způsob přeměny energie v palivových člancích, účinnost a ztráty
  - 2.1. Princip palivových článků
  - 2.2. Teoretická závislost napětí článků na teplotě, tlaku a koncentracích
  - 2.3. Účinnost palivových článků
  - 2.4. Hlavní typy ztrát, dosažitelná napětí a proudové hustoty
3. Hlavní typy vysokoteplotních palivových článků a obvyklé uspořádání
  - 3.1. Palivové články s elektrolytem ve formě roztavené směsi alkalických uhličitánů (MCFC)
  - 3.2. Palivové články s pevnými elektrolyty na bázi oxidů kovů (SOFC)
4. Paliva pro vysokoteplotní palivové články
  - 4.1. Plynná a kapalná paliva
  - 4.2. Tuhá paliva
  - 4.3. Parní reformování paliv
5. Moderní systémy s vysokoteplotními palivovými články a využitím tepla
  - 5.1. Systémy s využitím energie spalin parní nebo plynovou turbínou
  - 5.2. Systémy kogenerační (teplo a elektrická energie)
6. Závěr

## 1. Úvod

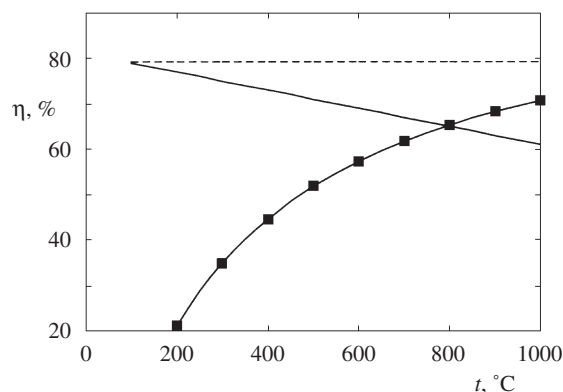
Palivové články<sup>1,2</sup> jako elektrochemické reaktory jsou schopné měnit chemickou energii na energii elektrickou. Tyto články jsou v zásadě schopné dosahovat vyšší účinnosti přeměny energie paliv na elektrickou energii<sup>3</sup> než konvenční termické systémy se spalováním paliv a tepelnými motory (např. turbínami) pro přeměnu tepla na užitečnou, elektrickou energii. Palivové články mají také přednosti v emisní oblasti. Vzhledem k tomu, že pracují obvykle v oblasti teplot 20–1000 °C a vzhledem k nutnosti využívání čistých paliv, jsou

emise NO<sub>x</sub>, SO<sub>x</sub>, prachu a těžkých kovů zanedbatelné. U vysokoteplotních palivových článků (VPČ) pracujících za teplot nad 600 °C se doposud vyvinuly dva základní typy článků<sup>1,2</sup>:

- a) palivový článek využívající jako elektrolyt roztavenou směs alkalických uhličitánů (tzv. molten carbonate fuel cell) a pracující ze teplot nejčastěji okolo 650 °C,
- b) palivový článek s pevným oxidovým elektrolytem – nejčastěji na základě ZrO<sub>2</sub>, tj. palivový článek s pevnými, stabilními oxidy (tzv. solid oxide fuel cell) pracující za teplot 700–1000 °C.

VPČ s oxidickými keramickými elektrolyty (SOFC) mohou mít elektrickou vodivost na bázi migrace aniontů O<sup>2-</sup> nebo tzv. protonovou vodivost (migrací iontů H<sup>+</sup>) či smíšenou vodivost, využívající migrace obou typů iontů. Jelikož keramické materiály a VPČ s čistě protonovou vodivostí elektrolytu za vysokých teplot jsou relativně novým předmětem výzkumu<sup>4</sup> a jejich praktické aplikace jsou zatím sporadické, náš přehled se jimi nezabývá.

I když u palivových článků běžně klesá teoretická termodynamická účinnost i maximální dosažitelné elektrické napětí článku s rostoucí teplotou provozu<sup>1</sup>, chemické reakce a elektrochemické procesy probíhají rychleji a reálné ztráty v palivových člancích bývají nižší a jejich proudová zatížitelnost bývá často vyšší než za nižších teplot. VPČ umožňují využití vysokopotenciálního tepla výstupních plynů např. k ohřevům, endotermním reakcím (zplyňování, reformování), případně v parních a plynových cyklech pro dodatečnou výrobu elektrické energie. Kombinace vysokoteplotních palivových článků s využitím odpadního tepla a nespotřebovaných paliv v tepelných motorech vede k vysoké celkové účinnosti přeměny chemické energie paliva na elektrickou energii v širším rozmezí teplot<sup>1,3</sup> (obr. 1). Teoretická mez účinnosti kombinací vysokoteplotních článků s odpadním teplem využívaným tepelnými motory za vyšších teplot (600–1000 °C) – je<sup>1</sup> rovna  $\Delta G_f / \Delta H_f$ . Skutečně dosažitelná účinnost přeměny energie paliva na užitečnou práci může být pak také vyšší než



Obr. 1. Schéma teoretických mezí účinnosti; ■ tepelný motor (Carnotův cyklus s nižší teplotou 100 °C), — vodíkový palivový článek, --- celková teoretická účinnost pro kombinovaný systém palivového článku–tepelný motor<sup>1</sup> (turbína)

Tabulka I

Teoretické max. dosažitelné účinnosti  $\eta$  přeměny energie různých paliv vyjádřené jako spalovací nebo reakční enthalpie  $\Delta H_f$  ( $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) na užitečnou práci vyjádřenou jako  $\Delta G_f$  ( $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) za teplot 300 a 1000 K (cit. 7)

Palivo a produkt	T = 300 K			T = 1000 K		
	$\Delta H_f$	$\Delta G_f$	$\eta$	$\Delta H_f$	$\Delta G_f$	$\eta$
oxidace						
$\text{H}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O}(\text{g})$	-241,844	-228,538	0,945	-247,858	-192,713	0,778
$\text{CO} \rightarrow \text{CO}_2$	-282,976	-257,025	0,908	-282,605	-195,549	0,691
$\text{CH}_4(\text{g}) \rightarrow \text{H}_2\text{O}(\text{g}) + \text{CO}_2$	-802,264	-800,839	0,998	-800,466	-800,812	1,000
$\text{Butan}(\text{g}) \rightarrow \text{H}_2\text{O}(\text{g}) + \text{CO}_2$	-2656,948	-2703,863	1,018	-2661,814	-2817,277	1,058
$\text{Methanol}(\text{g}) \rightarrow \text{H}_2\text{O}(\text{g}) + \text{CO}_2$	-675,958	-689,238	1,020	-673,090	-725,058	1,077
$\text{Ethanol}(\text{g}) \rightarrow \text{H}_2\text{O}(\text{g}) + \text{CO}_2$	-1277,640	-1306,568	1,023	-1277,902	-1378,317	1,079
$\text{C}(\text{s}) \rightarrow \text{CO}$	-110,53	-137,345	1,243	-112,021	-200,261	1,788
$\text{C}(\text{s}) \rightarrow \text{CO}_2$	-393,506	-394,370	1,002	-394,626	-395,810	1,003

účinnost samostatného tepelného motoru za daných podmínek.

Po stránce využitelnosti paliv mají vysokoteplotní články nespornou výhodu před nízkoteplotními palivovými články (obvykle s katalyzátory) v tom, že mohou využívat jako palivo nejen čistý vodík, ale také oxid uhelnatý, různé směsi vodíku s CO a dokonce také methan, při možnosti „vnitřního“ katalyzovaného reformování methanu vznikající vodní parou na směs CO + H<sub>2</sub>. Tímto přímým „vnitřním“ využitím tepla v endotermních reakcích se zvyšuje tepelná účinnost. Plynné směsné palivo, zvláště zředěné inertním plynem, nemůže být v praxi zcela využito ve VPC, a musí se proto dále využít např. spalováním nebo recirkulací spojenou se zplyňováním uhlíkatého paliva nebo reformováním uhlovodíků, tj. jejich přeměnou na paliva přímo využitelná vysokoteplotními články, jako je CO a vodík.

Na druhou stranu je nutno přiznat, že VPC mají obecně stále neuspokojivě vyřešené problémy s citlivostí k siriým sloučeninám, prachu, sazím, dehtům, parám těžkých a alkalických kovů v palivu<sup>1,2</sup>. Proto není možný jejich dlouhodobý spolehlivý provoz bez náležitých čistění „palivových“ plynů. Přímé využití tuhých paliv (např. uhlíku) ve vysokoteplotních palivových člancích, i když se to zdá teoreticky výhodné<sup>5</sup> (tabulka I), je komplikováno relativně pomalejší reakcí a difuzí (hlavně typu pevná látka v pevné látce v případě SOFC).

Jako oxidační prostředí se obvykle používá ve vysokoteplotních palivových člancích buď vzduch (u SOFC) nebo směs vzduchu s CO<sub>2</sub> (u MCFC). Zvyšování tlaku jak oxidačního plynného prostředí, tak i plynného paliva vede ke zvýšení dosažitelného napětí palivových článků a snížení některých ztrát. Rozhodující je však vliv teploty na ztráty a provozní charakteristiky vysokoteplotních palivových článků.

Velkou výzkumnou výzvou v oblasti VPC je výzkum nových materiálů pro elektrody a elektrolyty palivových článků, které by umožňovaly spolehlivé a účinné fungování baterií palivových článků za teplot pod 800 °C. Pro sestavování baterií a energetických jednotek s VPC pro dlouhodobou výrobu elektrické energie je nutná tepelně-roztažnostní a chemická kompatibilita všech materiálů palivových článků včetně spojovacích členů a těsnicích materiálů a jejich dlouhodobá termomechanická a chemická stabilita.

## 2. Způsob přeměny energie v palivových člancích, účinnost a ztráty

### 2.1. Princip palivových článků

V případě palivových článků je to Gibbsova energie  $G$ , která udává množství energie, které je přeměnitelné na externí, užitečnou práci. V palivovém článku (obr. 2) zahrnuje externí práce pohyb elektronů v elektrickém obvodu (elektrickou práci). Práce spojená se změnou objemu mezi vstupem a výstupem plynů není v palivovém článku využívána. Změna v Gibbsově slučovací energii mezi vstupními a výstupními látkami v palivovém článku  $\Delta G_f$  pak udává reakci uvolněnou energií:

$$\Delta G_f = G_f(\text{produktů}) - G_f(\text{reaktantů}) \quad (1)$$

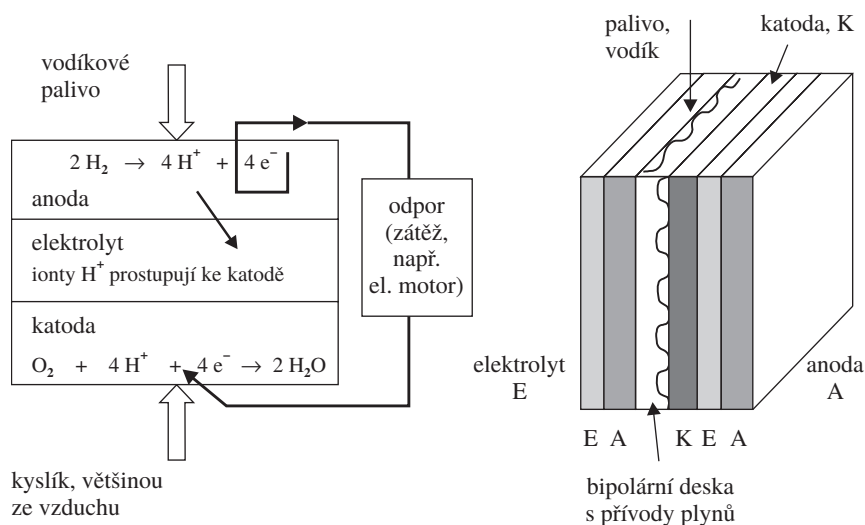
kde  $\Delta G_f$  je funkcí teploty, množství a stavu (fází) reaktantů a produktů (např. tabulka I).

Jestliže uvažujeme změnu  $\Delta G_f$  vztaženou na 1 mol látky a uvažujeme systém beze ztrát (reverzibilní děje), potom se dá pro elektrickou práci psát:

$$\Delta G_f = -zFE_{\text{th}} \quad (2)$$

kde  $\Delta G_f$  je změna Gibbsovy energie vztažená na mol reagující látky,  $z$  je počet elektronů přenášených pro každou molekulu paliva (obvykle dvojnásobek počtu reagujících atomů kyslíku),  $F$  je Faradayův náboj = 96 485 C·mol<sup>-1</sup> a  $E_{\text{th}}$  je teoretické elektrické napětí v otevřeném elektrickém obvodu s palivovým článkem, kterým neprochází proud. Je to vlastně maximální teoreticky dosažitelné elektrické napětí v palivovém článku. V tabulce II jsou uvedeny hodnoty těchto limitních napětí pro paliva a teploty z tabulky I.

Z tabulky II je vidět, že za vyšších teplot (např. 1000 K) jsou pro různá paliva dosahována napětí v poměrně úzkém rozmezí 1–1,26 V, zatímco za nižších teplot je větší závislost napětí na palivu. Z hlediska maximálních dosažitelných hodnot napětí palivových článků je za nižších teplot teoreticky nejlepším palivem CO, vodík a methanol, za vyšších teplot jsou to hlavně nižší alkoholy a uhlovodíky.



Obr. 2. Schéma vodíkového palivového článku a možné schéma uspořádání soustavy (baterie, „věže“) palivových článků spojených tzv. bipolárními deskami s oddělenými přívody paliva a kyslíku

Tabulka II

Hodnoty  $\Delta G_f$  (kJ.mol<sup>-1</sup>) a teoretická maximálně dosažitelná napětí  $E_{th}$  (V) nezátížených palivových článků pro různá paliva za teplot<sup>1,2</sup> 300 a 1000 K

Palivo a produkt oxidace	$T = 300 \text{ K}$		$T = 1000 \text{ K}$	
	$\Delta G_f$	$E_{th}$	$\Delta G_f$	$E_{th}$
H <sub>2</sub> → H <sub>2</sub> O(g)	-228,538	1,184	-192,713	0,999
CO → CO <sub>2</sub>	-257,025	1,331	-195,549	1,013
CH <sub>4</sub> (g) → H <sub>2</sub> O(g) + CO <sub>2</sub>	-800,839	1,037	-800,812	1,037
Butan(g) → H <sub>2</sub> O(g) + CO <sub>2</sub>	-2703,863	1,078	-2817,277	1,123
Methanol(g) → H <sub>2</sub> O(g) + CO <sub>2</sub>	-689,238	1,190	-725,058	1,252
Ethanol(g) → H <sub>2</sub> O(g) + CO <sub>2</sub>	-1306,568	1,128	-1378,317	1,190
C(s) → CO	-137,345	0,711	-200,261	1,038
C(s) → CO <sub>2</sub>	-394,370	1,022	-395,810	1,026

## 2.2. Teoretická závislost napětí článků na teplotě, tlaku a koncentracích

Pro výpočet teoretického vlivu teploty, tlaku a koncentrací látek v palivových člancích slouží Nernstova rovnice. Např. pro reakci vodíku a kyslíku v palivovém článku:



platí rovnice:

$$\Delta G_f = (\Delta G_f)^0 - RT \ln [a_{\text{H}_2} (a_{\text{O}_2})^{1/2} / a_{\text{H}_2\text{O}}] \quad (4)$$

kde  $(\Delta G_f)^0$  je změna molární Gibbsovy slučovací energie při standardním tlaku a teplotě,  $a_{\text{H}_2} = P_{\text{H}_2}$  a obdobné vztahy platí pro  $a_{\text{H}_2\text{O}}$  a  $a_{\text{O}_2}$ .  $P^0$  je standardní tlak 0,1 MPa,  $R$  je univerzální plynová konstanta a  $T$  je absolutní teplota.

S využitím vztahu (2) plyne (při  $z = 2$ ):

$$\Delta G_f = -2FE_0 - RT \ln [a_{\text{H}_2} (a_{\text{O}_2})^{1/2} / a_{\text{H}_2\text{O}}] \quad (5)$$

a po úpravě plyne pro teoretické napětí palivového článku vztah:

$$E_{th} = E_0 + (RT / 2F) \ln [a_{\text{H}_2} (a_{\text{O}_2})^{1/2} / a_{\text{H}_2\text{O}}] \quad (6)$$

Rovnice (6) pro výpočet napětí  $E$  (elektromotorické síly) je nazývána Nernstovou rovnicí a  $E$  je nazýváno „Nernstovým napětím“ palivového článku. Je to teoretické napětí článku bez zahrnutí ztrát.

Tlak v anodovém a katodovém prostoru článku bývá často blízký atmosférickému tlaku (systémovému tlaku  $P$ ). Jestliže  $P^0 = 1 \text{ bar}$  a  $x_{\text{H}_2}$ ,  $(x_{\text{O}_2})^{1/2}$ ,  $x_{\text{H}_2\text{O}}$  jsou molární koncentrace plynů H<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> a vodních pár, pak je možno rovnici (6) uvažovat ve tvaru:

$$E_{th} = E_0 + (RT / 2F) \ln [x_{\text{H}_2} (x_{\text{O}_2})^{1/2} / x_{\text{H}_2\text{O}}] + (RT / 2F) \ln (P^{1/2}) \quad (7)$$

U elektrochemických reakcí v palivových člancích, kde nedochází ke změnám látkového množství, jejich napětí  $E_{th}$  nezávisí na systémovém tlaku.

## 2.3. Účinnost článků

Teoretická termodynamická účinnost  $\eta_{th}$  palivových článků se většinou udává jako poměr  $\Delta G_f / \Delta H_f$ :

$$\eta_{th} = \Delta G_f / \Delta H_f \quad (8)$$

pro oxidační reakce paliv, i když pro některé reakce dosahují tyto účinnosti hodnot okolo 1 (oxidace methanu, alkoholů) nebo dokonce mnohem větších než 1 (např. při spalování uhlíku<sup>3</sup>, tabulka I). V případě chemických reakcí, kdy poměr  $\Delta G_f / \Delta H_f$  je větší než jedna (tj. při kladné změně entropie chemické reakce) vlastně jde o přeměnu nejen energie paliva, ale také části tepla z okolí na práci, takže skutečnou limitou je pro tento případ<sup>6</sup> hranice účinnosti 100 % ( $\Delta G_f = \Delta H_f$ ). Palivové články využívající chemických reakcí, kde  $\Delta G_f / \Delta H_f > 1$  by byly teoreticky výhodné pro přímou přeměnu tepla z okolí na užitečnou práci.

Reálná, praktická účinnost  $\eta_{re}$  palivových článků se může udávat jako poměr užitečného elektrického výkonu ( $E_{re} I_{re}$ ) k celkovému energetickému výkonu vstupujícího paliva:

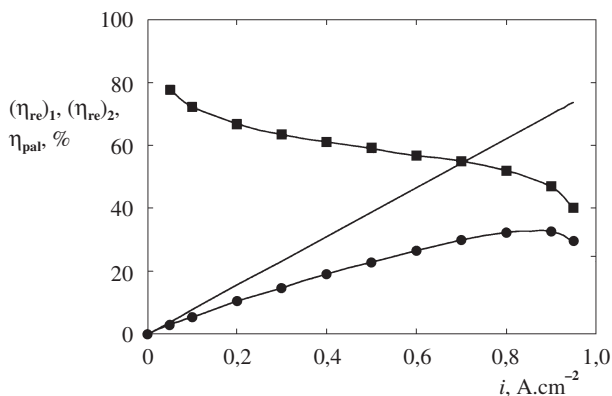
$$(\eta_{re})_1 = -E_{re} I_{re} / (\Delta H_f n_{in}) \quad (9)$$

nebo přesněji jako poměr užitečného elektrického výkonu palivového článku a energetického výkonu skutečně spotřebovaného paliva:

$$(\eta_{re})_2 = -E_{re} I_{re} / [\Delta H_f (n_{in} - n_{out})] \quad (10)$$

kde  $I_{re}$  je skutečný elektrický proud procházející obvodem s palivovým článkem (články),  $E_{re}$  je skutečné napětí při proudu  $I_{re}$ ,  $n_{in}$  a  $n_{out}$  jsou vstupní a výstupní molární toky paliva ( $\text{mol} \cdot \text{s}^{-1}$ ).

Tato reálná „vnitřní účinnost“ palivových článků pro oxidaci daného paliva vypovídá o stupni využití paliva a „nevratných“ ztrátách ve článku. V limitě může účinnost  $(\eta_{re})_2$  dosahovat hodnoty  $\eta_{th}$ . Reálná účinnost závisí nejen na typu článku, palivu, teplotě, tlaku apod., ale také a hlavně na proudovém zatížení, čili na způsobu a intenzitě využití palivového článku.



Obr. 3. Příklad<sup>8</sup> závislosti účinností  $(\eta_{re})_1$  a  $(\eta_{re})_2$  výroby elektrické energie a stupně využití  $\eta_{pal}$  paliva – vodíku u sériové baterie pěti vysokoteplotních článků typu SOFC při 900 °C na proudové hustotě  $i$ ; aktivní plocha deskových článků je 361 cm<sup>2</sup>, ● účinnost 1, ■ účinnost 2, — stupeň využití paliva

Zavedeme-li stupeň využití paliva  $\eta_{pal}$  podle rovnice:

$$\eta_{pal} = (n_{in} - n_{out}) / n_{in} \quad (11)$$

rovnice (10) pro účinnost může být psána s využitím rovnic (8) a (2) ve formě:

$$(\eta_{re})_2 = E_{re} I_{re} \eta_{th} / [z F E_{th} \eta_{pal} n_{in}] \quad (12)$$

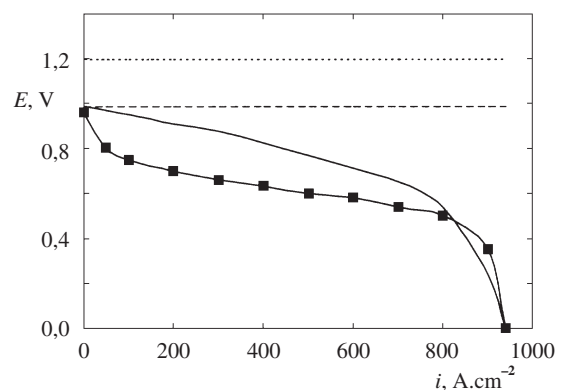
Při daném palivu a chemické reakci, daném proudu  $I_{re}$  v externím elektrickém obvodu a dané spotřebě paliva v článku je poměr účinností  $(\eta_{re})_2 / \eta_{th}$  daného palivového článku za různých podmínek (např. teplot, tlaků, koncentrací plynů) vyjadřován obvykle poměrem napětí  $E_{re}$  a  $E_{th}$ :

$$(\eta_{re})_2 / \eta_{th} = E_{re} / E_{th} \quad (13)$$

Příklad typické závislosti účinností  $(\eta_{re})_1$  a  $(\eta_{re})_2$  na proudové hustotě a stupni využití paliva pro baterii 5 sériově zapojených vysokoteplotních článků<sup>8</sup> typu SOFC při teplotě 900 °C je na obr. 3. Účinnost VPC<sup>7</sup> vztažená na energii skutečně spotřebovaného paliva  $(\eta_{re})_2$  dosahuje při nízkých proudových hustotách nejvyšších hodnot, blízkých  $\eta_{th}$ . Hodnoty účinnosti vztažené na energii vstupujícího paliva dosahují nejvyšších hodnot při poměrně vysokých proudových hustotách (nad 600 mA·cm<sup>-2</sup>). Běžně se u VPC uvažuje s 60 až 85% využitím vstupujícího paliva, kdy účinnost  $(\eta_{re})_1$  dosahuje pro vodíkové palivo 30 až 50%. Praktické maximální reálné účinnosti dosahované v současnosti u větších jednotek s VPC o elektrickém výkonu nad 10 kW jsou okolo 50%.

## 2.4. Hlavní typy ztrát, dosažitelná napětí a proudové hustoty v palivových článcích

Obvykle se obecně uvažují u samostatných palivových článků čtyři hlavní typy ztrát či nevratností<sup>1,2</sup>, které způsobují pokles skutečného napětí reálného palivového článku; jsou to aktivizační ztráty, ztráty vnitřním transportem paliva, ohmické (odporové) ztráty a koncentrační ztráty u elektrod. U soustav



Obr. 4. Schematické srovnání typických průběhů závislosti napětí článku  $E$  na proudové hustotě  $i$  pro nízkoteplotní palivové články (NPC) a vysokoteplotní palivové články (VPC) s teoretickými limitními napětími pro otevřený elektrický obvod; ..... NPC článek – mez, --- VPC článek – mez, ■ NPC článek skutečnost, — VPC článek skutečnost

(baterií) palivových článků k tomu přistupují další ztráty způsobené elektrickými odpory spojů, bipolárních desek apod.

*Aktivační ztráty* (polarizace elektrod) jsou způsobeny pomalostí reakcí probíhající na povrchu elektrod. Dají se zmenšit katalýzou, zvýšením teploty, zvýšením drsnosti a porozity elektrod, zvýšením koncentrace reaktantu (např. nahrazením vzduchu čistým kyslíkem) a zvýšením tlaku.

Skutečné dosažené napětí palivového článku  $E_{re}$  je pak menší než  $E_{th}$  právě o tyto ztráty ( $\Delta E_{akt}$ ). Celkové aktivační ztráty zahrnují obecně ztráty na obou elektrodách, anodě a katodě:

$$-\Delta E_{akt} = A_A \ln(I/I_{oA}) + A_K \ln(I/I_{oK}) \quad (14)$$

kde  $A_A$ ,  $A_K$  jsou aktivační konstanty pro anodu a katodu a  $I_{oA}$ ,  $I_{oK}$  jsou tzv. výměnné proudové hustoty pro anodovou a katodovou reakci.

Konstanta  $A$  se obvykle vyjadřuje rovnicí:

$$A = RT / (zF\alpha) \quad (15)$$

kde  $\alpha$  je tzv. koeficient přenosu náboje. Hodnoty  $\alpha$  závisí na chemické reakci a na materiálu elektrod a mohou nabývat hodnot v rozmezí 0–1.

Hodnoty  $I_{oA}$  jsou pro vodíkové palivové články mnohem větší než hodnoty  $I_{oK}$ , proto se u nich anodové ztráty zanedbávají. U jiných paliv ( $CO$ ,  $CH_4$ ) však anodové aktivační ztráty nemusí být zanedbatelné. Hodnoty  $I_o$  jsou poměrně vysoké pro vysokoteplotní palivové články (tzn. tyto články mají malé aktivační ztráty) a naopak hodnoty  $I_o$  (hlavně  $I_{oK}$ ) jsou nízké (tzn. velké aktivační ztráty) pro většinu dnešních nízkoteplotních článků (obr. 4).

#### Ztráty vnitřním transportem paliva a vnitřními proudy

Ideální palivový článek by měl mít elektrolyt s čistě iontovou vodivostí a měl by být neprostupný pro molekuly paliva. Ve skutečnosti tomu tak není a malá část paliva (např. vodíku) prochází v molekulární podobě přes elektrolyt do katodového prostoru, kde reaguje s kyslíkem a uvolňuje pouze teplo. Tím dochází ke ztrátě příslušných elektronů, které neprojdou vnějším obvodem. Formálně podobně působí ztráty elektronová vodivost elektrolytu, která vede ke ztrátě elektronů, které neprojdou vnějším obvodem, ale jsou „zkratovány“ palivovým článkem. Oba jevy (i když často významem nesrovnatelné) vedou k úbytku toku elektronů (proudu) ve vnějším obvodu. Protože však proudová zátěž v obvodu s palivovými články je určována vnější zátěží (je tedy nezávislá) projevuje se tato ztráta poklesem elektrického napětí při daném vnějším proudu (jako by formálně protékal palivovými články větší proud). Proto se tyto ztráty často vyjadřují aditivním členem  $I_n$  ve výrazu pro proudovou hustotu v modifikované rovnici pro aktivační ztráty – např.:

$$E_{re} = E_{th} + \Delta(E_{akt})_m = E_{th} - A_A \ln((I + I_n)/I_{oA}) - A_K \ln((I + I_n)/I_{oK}) \quad (16)$$

Ztráty vnitřním transportem paliva jsou charakteristické a významné hlavně pro nízkoteplotní palivové články; v případě vysokoteplotních palivových článků bývají tyto ztráty zanedbatelné.

#### Ohmické (odporové) ztráty

Vlivem průchodu proudu palivovým článkem klesá dosažitelné napětí. Ve většině typů článků je elektrický odpor soustředěn hlavně v elektrolytu, i když příspěvek elektrod a bipolárních spojovacích destiček a kontaktů není zanedbatelný. Rovnice pro pokles napětí  $\Delta E_{ohm}$  vlivem vnitřního odporu se uvádí obvykle ve formě:

$$\Delta E_{ohm} = -(i + i_n) r \quad (17)$$

kde  $i$  je proudová hustota (např. v  $mA \cdot cm^{-2}$ ) a  $r$  je specifický odpor (např. v  $k\Omega \cdot cm^{-2}$ ).

Ohmický odpor je důležitý (nezanedbatelný) prakticky u všech typů článků, zvláště však u vysokoteplotních článků s pevným oxidovým elektrolytem (SOFC) za relativně nižších teplot provozu (pod  $800^\circ C$ ). Tři základní způsoby zmenšení vnitřního odporu článků jsou:

- užití elektrod s největší možnou vodivostí,
- užití vhodných materiálů a konstrukce bipolárních desek a spojů v zapojeních sérií palivových článků,
- pokud možno tenká vrstva elektrolytu – ovšem bez újmy na robustnosti celého článku.

*Koncentrační ztráty* se mohou projevovat při vyčerpávání reaktantu (např.  $O_2$  při využití vzduchu) v oblasti elektrod. Rozsah ztrát závisí hlavně na proudové hustotě (intenzitě elektrochemického procesu), na rychlosti elektrochemické reakce, koncentraci reaktantu a na fyzikálních faktorech proudění, difuze atd. Rovnice pro koncentrační ztráty  $\Delta E_{kon}$  má tvar:

$$\Delta E_{kon} = (RT/zF) \ln[1 - i/i_{lim}] = B_1 \ln[1 - i/i_{lim}] \quad (18)$$

kde  $i_{lim}$  je limitní proudová hustota, při které je palivo využíváno rychlostí jeho dodávání. Napětí článku klesá prakticky na nulu při dosažení limitní proudové hustoty  $i_{lim}$ . Celková rovnice pro skutečné napětí článku s uvážením všech uvedených ztrát je potom:

$$E_{re} = E_{th} + (\Delta E_{akt})_m + \Delta E_{ohm} + \Delta E_{kon} \quad (19)$$

Srovnání typických hodnot konstant pro jednotlivé ztráty u nízko- a vysokoteplotního palivového článku (PEMFC a SOFC) je uvedeno v tabulce III.

Z tabulky III je vidět, že pro energetické ztráty u vysokoteplotních článků typu SOFC je rozhodující vnitřní, ohmický odpor, zatímco u nízkoteplotních článků jsou rozhodující aktivační ztráty.

U elektrických vlastností palivových článků je velmi důležitá kapacita, která je odrazem existence elektrické dvojvrstvy v oblasti těsně u povrchu elektrod článků. Tyto kapacitní vlastnosti se projevují hlavně při dynamickém chování článků: způsobují pomalejší náběh napětí při odpovědi na skokové změny proudového zatížení nebo při vypnutí článku (přerušení elektrického obvodu). Měření odpovědi napětí na elektrodách palivových článků na přerušení proudu v obvodu se používá ke stanovení impedančních vlastností článků<sup>9-11</sup> (relativní významnosti vnitřního odporu, kapacit, relativní výše ohmického odporu atd.). U vysokoteplotních článků typu SOFC (cit.<sup>10</sup>) bývá nejvýznamnější ohmická složka vnitřních ztrát a kapacitní vlastnosti jsou spíše potlačeny. U článku typu MCFC

Tabulka III

Hodnoty konstant<sup>1</sup> z rovnic (14)–(18) při použití vodíku jako paliva v nízkoteplotním palivovém článku s membránou (PEMFC) a ve vysokoteplotním článku s pevným elektrolytem na bázi ZrO<sub>2</sub> (SOFC)

Typ elektr. napětí nebo konstanty	PEMFC při 50 °C	SOFC při 800 °C
$E_{th}$ (nezatíž.), V	1,2	1,0
$i_n$ , mA.cm <sup>-2</sup>	2	2
$r$ , kΩ.cm <sup>-2</sup>	3.10 <sup>-5</sup>	30.10 <sup>-5</sup>
$i_o$ , mA.cm <sup>-2</sup>	0,067	300
$A$ , V	0,06	0,03
$B$ , V	0,05	0,08
$i_{lim}$ mA.cm <sup>-2</sup> )	900	900

(cit.<sup>9</sup>) bývá ohmická složka odporu méně významná. Vysokoteplotní palivové články vykazují obvykle lepší přizpůsobení větším proudovým hustotám<sup>1,2</sup> a mají obecně menší aktivizační (polarizační) ztráty, tj. menší pokles napětí s rostoucím proudovým zatížením.

### 3. Hlavní typy vysokoteplotních palivových článků a obvyklé uspořádání

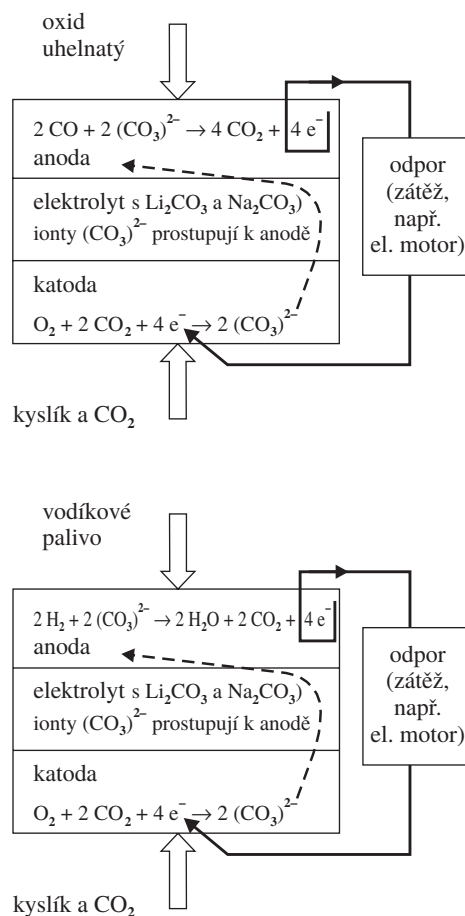
Ačkoliv se někdy do středně- a vysokoteplotních palivových článků zahrnují také články s kyselinou fosforečnou jako elektrolytem, které pracují za teplot okolo 200 °C, my se zde soustředíme na skutečně vysokoteplotní články, u kterých se vyvinuly dosud dva základní typy: článek s elektrolytem na bázi roztavené směsi alkalických uhličitán<sup>12–15</sup> (MCFC) pracující za teplot 600–700 °C (nejčastěji okolo 650 °C) a na články s pevným oxidovým elektrolytem<sup>16–19</sup> většinou zatím na bázi ZrO<sub>2</sub> (články typu SOFC), pracující za teplot 700–1000 °C, nejčastěji 800–900 °C.

#### 3.1. Palivové články s elektrolytem ve formě roztavené směsi alkalických uhličitán (MCFC)

Elektrolytem v tomto typu palivového článku je roztavená směs alkalických uhličitán. Obvykle jde buď o binární směs uhličitán lithia a draslíku či lithia a sodíku nebo ternární směs Li<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Tato směs je zakotvena v keramické matici na bázi Li<sub>2</sub>O.Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Za vysokých teplot 600–700 °C tvoří roztavené uhličitany vysoce elektricky vodivou taveninu s uhličitánovým aniontem (CO<sub>3</sub>)<sup>2-</sup> umožňujícím iontovou vodivost.

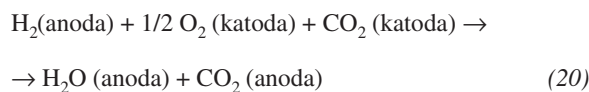
Schéma tohoto palivového článku (MCFC) pro vodík a pro CO jako palivo je na obr. 5.

Zvláštností tohoto článku je nutnost přivádění směsi kyslíku a CO<sub>2</sub> na katodu, kde se CO<sub>2</sub> proměňuje elektrochemickou reakcí na ionty (CO<sub>3</sub>)<sup>2-</sup>. Tyto ionty se pohybují kapalným elektrolytem k anodě, kde reagují např. s vodíkem na vodu a oxid uhličitý za uvolnění elektronů. Uvolněné elektrony jsou po průchodu vnějším obvodem spotřebovávány na katodě při



Obr. 5. Schéma vysokoteplotního palivového článku s elektrolytem obsahujícím roztavenou směs alkalických uhličitán (MCFC) s CO a vodíkem jako palivy; do katodové oblasti musí být uváděna směs kyslíku a CO<sub>2</sub> přibližně v poměru 1:2

reakci CO<sub>2</sub> s kyslíkem. Pro případ vodíku jako paliva je celková reakce probíhající v MCFC:



Nernstova rovnice pro tento článek a vodík jako palivo má tvar:

$$\begin{aligned} E_{th} = E_o + (RT/2F) \ln [P_{\text{H}_2} (P_{\text{O}_2})^{1/2} / P_{\text{H}_2\text{O}}] + \\ + (RT/2F) \ln [(P_{\text{CO}_2})_K / (P_{\text{CO}_2})_A] \end{aligned} \quad (21)$$

v případě CO jako paliva obdobně platí:

$$E_{th} = E_o + (RT/2F) \ln [P_{\text{CO}} (P_{\text{O}_2})^{1/2} (P_{\text{CO}_2})_K / (P_{\text{CO}_2})_A^2] \quad (22)$$

Teoretická napětí palivového článku typu MCFC pro vodík a CO jako paliva jsou za teplot okolo 650 °C velmi blízká,

okolo 1,04 V. V praxi se pro takové články používá jako palivo často směs CO + H<sub>2</sub> (např. po reformování methanu vodní parou) nebo je dokonce možné přímo uvnitř tohoto palivového článku částečně reformovat methan vodní parou vznikající na anodě, přičemž teplo potřebné k endotermní reakci je odebráno horkým produktům (spalinám). Oxid uhelnatý v přítomnosti vodních par reaguje částečně na CO<sub>2</sub> a vodík podle reakce:



Konstrukce článku MCFC vychází z elektrolytu imobilizovaného v porézní keramické matici s malými póry, zatímco elektrody mají větší póry, které jsou jen částečně zaplněny taveninou. Správné rozdělení elektrolytu v pórech a relativně malé tlakové rozdíly mezi katodou a anodou jsou velmi podstatné pro správnou funkci článku. Různé nežádoucí děje jako vypařování uhličitánů, koroze kovových materiálů elektrod<sup>20</sup> v taveninách alkalických uhličitánů, migrace a vysrážení nečistot mezi elektrodami a elektrolytem<sup>21</sup> apod. přispívají k problémům při dlouhodobějším využívání MCFC.

Elektrolytem je směs uhličitánů Li<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> nebo Li<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> + K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, která je zakotvena v matici s α- či β-LiAlO<sub>2</sub> o tloušťce asi 0,5–1 mm. Za typických provozních podmínek je elektrolyt odpovědný za asi 70 % ohmických ztrát v MCFC.

Anoda<sup>1,12</sup> je dnes tvořena různými typy slitin Ni–Cr, případně Ni–Cr–Al, počáteční porozita bývá 50–70 %, tloušťka anody bývá 0,2–1,5 mm. Katoda<sup>1,12</sup> je tvořena nejčastěji NiO (např. NiO dopovaným lithiem) s asi 60% porozitou, tloušťkou 0,5–1 mm a póry o průměru asi 7–16 μm. Problémem současných katod na bázi NiO je sice malá, ale významná rozpustnost v uhličitánové tavenině. Ionty niklu difundují k anodě, kde se redukuje na kovový nikl, který se sráží v elektrolytu a postupně zkratuje článek (zvyšuje elektronovou vodivost elektrolytu).

Baterie (série) článků typu MCFC mají různé provedení bipolárních desek (např. se žebrováním, zvlněnými plechy, kovovými deskami s kanálky pro plyny apod.). Uspořádání článků do sériových baterií může být buď ve formě paralelních desek položených horizontálně, nebo prstenců seřazených do sloupců. Typické pro všechna tato uspořádání je nutnost přivádění paliva i oxidantu paralelně ke všem článkům, což vyžaduje externí nebo interní rozdělovací potrubí. Relativně jednoduché vnější rozdělování plynů vede obvykle ke křížovému toku paliva a oxidantu, což může způsobovat významné teplotní rozdíly ve člancích na povrchu elektrod. Aby se částečně zmínila koncentrační a teplotní rozdíly v člancích, má palivová i oxidační strana další rozvodné vnitřní rozdělovací kanálky (internal manifolds). Vnější těsnění jsou nejčastěji z vhodné keramické plsti (např. ZrO<sub>2</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> apod.). K těsnění vnitřních rozvodů se používá materiálu matrice elektrolytu.

Finální příprava článků MCFC se provádí po sestavení požadované série (soustavy) článků. Zahřátím soustavy článků a roztavením elektrolytu za teplot okolo 450 °C se teprve začne nasyčovat keramická matrice roztaveným elektrolytem. Tento děj vede k objemovým změnám uvnitř článku, se kterými musí konstrukce článku počítat. Při ohřevu článku musí být anody ve styku s redukčním plynem, aby se nikl či niklová slitina povrchově neoxidovaly. Při provozu série článků MCFC je nutné zajistit rovnoměrné zásobení všech článků reaktanty. Těsnění keramiky a kompaktních a porézních ko-

vových materiálů za vyšších, kolísavých teplot je také složitější záležitostí<sup>22</sup>. MCFC vyžadují paliva s velmi malým obsahem síry a těžkých kovů. Pokud uvnitř MCFC probíhá reformování uhlovodíků na směs CO a H<sub>2</sub>, pak katalyzátor pro tento děj musí být odolný vůči parám alkalických uhličitánů. Z bezpečnostních důvodů bývá tlak plynu na katodě mírně vyšší (řádově o stovku Pa) než tlak na anodě. Tato nutná opatření a složitější uvádění článků MCFC do provozu (i po odstavení) kladou překážky při využití MCFC za vyšších provozních tlaků plynů, kde je udržování stálého malého přetlaku, pomalé najíždění tlaku a vyhýbání se náhlým změnám tlaku složitější technickou záležitostí.

Demonstrační jednotky s články MCFC prokázaly elektrickou účinnost (vztahenou k výhřevnosti paliva) okolo 50 %. Celkovou účinnost při využití odpadního tepla je však možno zvýšit až na 60–80 %. Emise NO<sub>x</sub> z jednotek o výkonu desítky a stovky kW byly pod 10 ppm obj. Emise SO<sub>2</sub> byly zanedbatelné, protože již plynné palivo musí mít obsah síry pod asi 2 ppm.

### 3.2. Palivové články s pevnými elektrolyty na bázi oxidů kovů (SOFC)

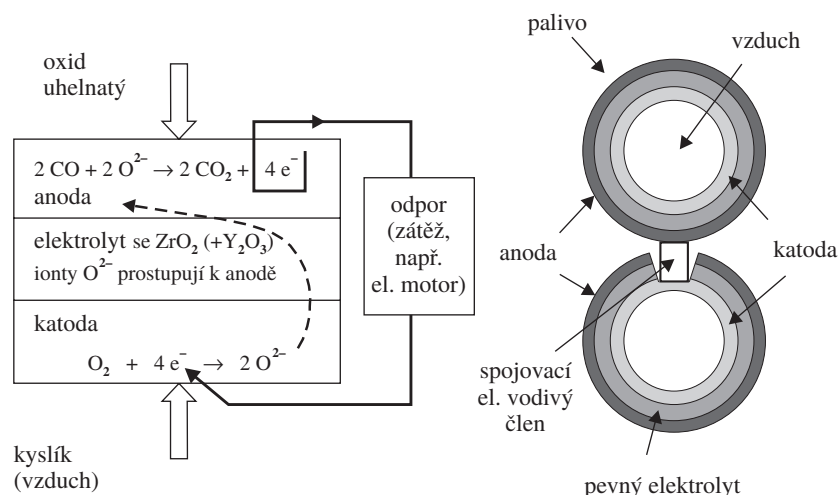
Děje v palivovém článku typu SOFC jsou schematicky znázorněny na obr. 6.

Palivové články typu SOFC jsou výjimečné tím, že neobsaňují a ani pro svou funkci nepotřebují kapalný elektrolyt. Ve funkci elektrolytu se u SOFC užívá iontově vodivý keramický materiál. Celý palivový článek je jednodušší než ostatní palivové články a může být také kompaktnější. Články typu SOFC umožňují transport iontu O<sup>2-</sup> z katody přes elektrolyt k anodě. Až donedávna byl elektrolytem u SOFC prakticky jen ZrO<sub>2</sub> stabilizovaný přidávkem Y<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (YSZ). Za teplot nad asi 800 °C se ZrO<sub>2</sub> stává vodivým pro ionty O<sup>2-</sup>. Iontová vodivost yttriem stabilizovaného ZrO<sub>2</sub> je při 800 °C asi 0,02 S.cm<sup>-1</sup> a při 1000 °C je již asi pětikrát vyšší a srovnatelná s vodivostí kapalných elektrolytů. Navíc vrstva pevného elektrolytu může být velmi tenká (desítky μm) kvůli nízkému elektrickému odporu<sup>1</sup>.

Nověji se ukazuje<sup>23,24</sup> jako vhodný elektrolyt z hlediska relativně vyšší elektrické vodivosti za teplot okolo 650–750 °C ZrO<sub>2</sub> s přísadou Sc<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Některé materiály, jako např. CeO<sub>2</sub>, mají vyšší vodivost O<sup>2-</sup> než ZrO<sub>2</sub>, ale jsou méně stabilní<sup>23,24</sup> v prostředí s nízkou koncentrací kyslíku (blízko anody). Přidávkem speciálních dopantů (např. na bázi Ga) se však dá situace zlepšit. Zcela nově byly objeveny směsné keramické materiály na bázi LaSrGaMgO (tzv. LSGM), které vykazují<sup>23–25</sup> nejvyšší iontovou vodivost a již při teplotě 800 °C dosahují parametrů (elektrické vodivosti a polarizace) stabilizovaného ZrO<sub>2</sub> při teplotě 1000 °C.

Jako anoda slouží směsné keramicko-kovové sinterované materiály (cermety) na bázi Ni a stabilizovaného ZrO<sub>2</sub>. Porozita anody bývá 20–50 % kvůli dobrému transportu a větší reakční ploše. Pro zmenšení ohmických polarizačních ztrát na rozhraní anody a elektrolytu se zkoušejí dvouvrstvé anody. Materiál anod může být také uzpůsoben ke katalytickému reformování např. methanu<sup>1,11</sup> na směs CO a H<sub>2</sub>. Trvalejší provoz článků SOFC při vysokých proudových hustotách vede ke zvyšování odporu anody vlivem aglomerace částic Ni.

Katody u článků typu SOFC mají porézní strukturu a jsou vyrobeny buď z LaMnO<sub>3</sub> dopovaného stronciem (LSM) nebo různých směsných oxidů typu perovskitu<sup>24,26</sup> s p-typem vodi-



Obr. 6. Schéma palivového článku s pevným elektrolytem (SOFC) pro využití CO jako paliva a schéma uspořádání a propojení trubkových palivových článků typu SOFC

vosti a směšnou iontovou a elektronovou vodivostí. Tyto katody umožňují efektivní provoz palivových článků (společně s elektrolytem LSGM) za teplot i pod 800 °C. Nověji se ukazují jako vhodné, zvláště pro SOFC pracující za teplot pod 800 °C, katody na bázi směšných kobaltitanů La, Sr a Fe (tzv. LSFC katody). Materiály na bázi LSFC a směšné materiály typu LSFC/Ce<sub>0,9</sub>Sm<sub>0,1</sub>O<sub>1,95</sub> mají oproti klasickým LSM katodám rychlejší kinetiku a vyšší difúzní koeficient kyslíku. Typickým problémem při dlouhodobém provozu článků SOFC a cyklických změnách teplot je odchlípkování materiálu katody<sup>24</sup> od elektrolytu, což vede ke zvyšování elektrického odporu.

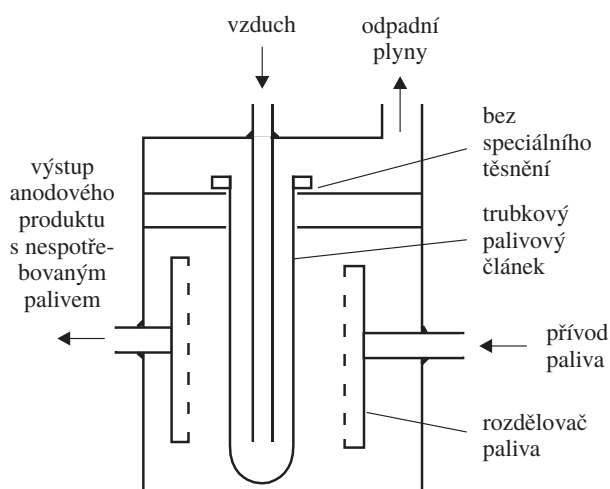
Konstruktivně byly vyvinuty a již se také komerčně vyrábějí např. v Holandsku dva základní typy tenkých planárních článků SOFC o aktivní ploše více než 100 cm<sup>2</sup>:

- články s mechanicky nosnou vrstvou elektrolytu (typ 3YSZ, tloušťka 130–150 μm); tyto tzv. články ESC (electrolyte-supported cell) mají doporučenou pracovní teplotu 900–950 °C; tloušťka NiO/CeO anody a LSM katody je mezi 30 až 60 μm,
- články s mechanicky nosnou, robustní, dvouvrstvou anodou (400–600 μm tlustou) a tenkou vrstvou elektrolytu typu 8YSZ pouze 10–25 μm silnou; tyto tzv. články ASC (anode-supported cell) mají doporučenou pracovní teplotu 700–850 °C.

Články ASC mají menší vnitřní ztráty (vyšší napětí při stejném proudovém zatížení) a lépe umožňují přímé parní reformování methanu na anodě.

Jiné řešení, používané v průmyslu velkými firmami (např. Siemens-Westinghouse, USA) je založeno na trubkovém porézním nosiči a palivovém článku ve tvaru trubky.

Skupiny a řetězce (baterie) článků typu SOFC používají dnes obvykle dva základní způsoby uspořádání: svazky paralelních trubkových článků s kovovými nebo směšnými kontakty<sup>1,27</sup> (obr. 6) a vícevrstvé planární uspořádání článků s tzv. bipolárními deskami pro spojování jednotlivých článků (obr. 2) a zároveň pro přívod plynů k anodě a katodě. V literatuře jsou však popsána i jiná uspořádání<sup>23,29</sup> často využívající tenkých vrstev elektrolytů<sup>30</sup> a elektrod nebo dokonce uspořádání s monolitickými bloky.



Obr. 7. Schéma možného uspořádání trubkových vysokoteplotních palivových článků typu SOFC, které nevyžaduje speciální vysokoteplotní utěsnění

Trubkové uspořádání článků má výhodu oproti planárnímu uspořádání v možnosti konstrukce baterií těchto článků prakticky bez použití těsnění, s odvodem mírně unikajících palivových plynů v odpadním vzduchu společně s jejich vyhořením. Schéma možného řešení je na obr. 7. Problémem jsou však vhodné materiály pro výrobu spojů mezi trubkovými články a celkově relativně pracnější a dražší výroba. Planární články mají výhodu v relativně snadné a automatizovatelné výrobě pomocí páskového odlévání a síťového tisku elektrod. Jejich nevýhodou je větší křehkost za vysokých teplot pod mechanickým napětím a hlavně problémy s utěsněním baterií článků s kovovými bipolárními spojovacími členy.

Ztráty napětí za provozu článků SOFC jsou způsobeny hlavně ohmickými ztrátami s příspěvkem (uvažován trubkový článek): 45 % ztrát katoda (tloušťka asi 2,2 mm), 18 % ztrát anoda (tloušťka asi 0,1–0,2 mm), 12 % ztrát elektrolyt (tloušťka asi 0,04 mm) a asi 25 % ztrát mezičlánekové spojení.



Tabulka IV  
Srovnání důležitých vlastností vybraných plyných a kapalných paliv<sup>1</sup>

Palivo	Vodík	Methan	Methanol	Ethanol	Oktan
Molekulární hmotnost	2,016	16,04	32,04	46,07	114,2
Bod varu, °C	-252,7	-161,5	64,7	78,5	125,7
Výparné teplo, kJ.kg <sup>-1</sup>	445,6	510	1100	855	368,1
Spalné teplo při 25 °C, kJ.mol <sup>-1</sup>	241,8	802,5	638,5	1275,9	5512,0
Hustota kapaliny, kg.m <sup>-3</sup>	77	425	792	789	702
Molární teplo při 0 °C, J.mol <sup>-1</sup> .K <sup>-1</sup>	28,8	34,1	76,6	112,4	188,9
Teplota samovznícení, °C	571	632	470	362	220
Meze výbušnosti ve vzduchu, obj.%	4–77	4–16	6–50	3–19	1–6

Kompaktní uspořádání trubkových článků SOFC s většími možnostmi utěsnění dovoluje také provoz za zvýšených tlaků plynů, a tím také umožňuje využití článků SOFC a odpadního tepla z nich v kombinovaných paroplynových cyklech s plynovými a parními turbínami. V Japonsku byl např. zkoušen systém se 414 trubkovými články SOFC o výkonu 10 kW, který pracoval<sup>23</sup> při tlaku 0,5 MPa. Optimální teplota pro starší články s elektrolytem na bázi ZrO<sub>2</sub> je 900–1000 °C, pro nověji vyvinuté články s tenkovrstvými elektrolyty je optimální teplota nižší, přibližně 700–850 °C.

Během provozu článků SOFC v bateriích a velkých soustavách dochází k časovým a místním rozdílům teplot, složení plynů a tlaku. Teplotní rozdíly mezi vstupem a výstupem plynů dosahují běžně hodnot okolo 100 °C. V případě vnitřního, endotermního reformování methanu jsou místní teplotní rozdíly daleko vyšší. Teplotní gradienty vyvolávají mechanická napětí v článku a nerovnoměrnosti elektrochemických dějů a proudových hustot. Keramické materiály článků špatně snášejí velké a opakované změny teplot při současné mechanické zátěži, což může vyvolat i jejich praskání. Utěsnění např. přívodu a odvodu plynů je při měnících se vysokých teplotách také problémem. Jako těsnicí hmoty se používají plsti a tkaniny z keramických vláken, speciální keramické tmely a skla nebo kombinace plstí se speciálními keramickými tmely. Dlouhodobě spolehlivá uspořádání článků SOFC do baterií a bloků, vhodné tvary a materiály spojovacích a bipolárních členů, vhodné vnitřní rozdělovače plynů pro zmenšení tepelných nerovnoměrností a těsnění se stále hledají a zkoušejí a nebývají uváděny v tzv. „otevřené“ literatuře. Snižování provozní teploty článků SOFC kvůli menšímu namáhání, možnosti použití levnějších materiálů a lepšímu utěsnění soustav článků má smysl z hlediska tepelné integrace VPC do asi 600 °C. Při nižších teplotách již klesá využitelnost odpadního tepla v parních a hlavně kombinovaných cyklech.

Uspořádání článků SOFC je možné kombinovat nejen s využitím tepla, případně i tlaku produkovaných plynů v turbínách, ale po odstranění CO v produkovaných plynech z článků SOFC a po snížení teploty také s nízkoteplotními palivovými články typu PEMFC (proton exchange membrane fuel cell). SOFC články vyžadují také čistší paliva s velmi nízkým obsahem síry. Přítomnost oxidu uhličitého v katodovém prostoru nevádí (CO<sub>2</sub> se chová jako inert). Produkce oxidů dusíku palivovými články typu SOFC je velmi nízká.

Jiné, samostatné typy problémů (popsané v další kapitole) přináší využitelnost plyných a kapalných paliv a vnitřní

katalytické reformování uhlovodíků v anodové oblasti. Zde hrozí při špatně tepelně řízeném procesu (nerovnoměrné teploty) a nevhodném palivu, případně nevhodném ředění paliva vznik sazí, případně deaktivace až zničení katalyzátoru i anody.

#### 4. Paliva pro vysokoteplotní palivové články

Vysokoteplotní palivové články mohou používat jako palivo nejen vodík, ale také oxid uhelnatý, směsi CO s vodíkem, uhlovodíky, alkoholy apod. Vysokoteplotní články jsou zvláště citlivé na obsah prachu, par alkalických a těžkých kovů a na obsah síry či sloučenin síry v plyném palivu. Citlivost vůči amoniaku bývá menší. Uhlovodíky mohou být endotermní reakcí s vodní parou za vyšších teplot (tzv. reformování) převedeny na směs CO a vodíku. V systémech, které obsahují CO a vodní páru za vyšších teplot, běží také další reakce CO s vodou (viz rovnice 23). Také tuhá paliva (uhlí, biomasa) mohou být po zplynění<sup>31</sup> např. vodní parou za vyšších teplot přeměněny na směs CO, H<sub>2</sub> a uhlovodíků, které mohou být po odstranění dehtů, síry, amoniaku, těžkých kovů apod. využity ve vysokoteplotních palivových člancích. Srovnání některých vlastností plyných a kapalných paliv využitelných ve vysokoteplotních palivových člancích je v tabulce IV.

##### 4.1. Plyná a kapalná paliva

Vodík je nejlepším palivem do vysokoteplotních palivových článků, protože je elektrochemicky reaktivnější než uhlovodíky nebo oxid uhelnatý. Nicméně, ani oxid uhelnatý není nevhodným palivem. Jestliže jsou přiváděny do palivového článku ve směsi vodík a CO, je rychleji vyčerpáván vodík, tzn. že plyn má na výstupu z anody relativně vyšší poměr CO/H<sub>2</sub> než na vstupu.

Plyny obsahující aspoň 10–20 % vodíku či oxidu uhelnatého již mohou být potenciálními palivy ve vysokoteplotních palivových člancích. Zemní plyn může být sice využíván ve vysokoteplotních palivových člancích přímo<sup>11,32</sup>, ale sám o sobě (bez katalýzy) je poměrně málo reaktivní a má tendenci se za vysokých teplot částečně rozkládat na uhlík a vodík.

Na druhé straně, za teplotních podmínek provozu vysokoteplotních palivových článků a vzhledem k obvyklému složení materiálů anod (Ni–Cr–Al v případě článků MCFC a cermet s Ni v případě článků SOFC), je prakticky vždy aspoň část methanu přeměněna reakcí s anodovými produkty<sup>33</sup> (CO<sub>2</sub> +

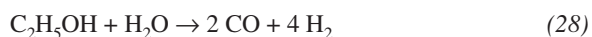
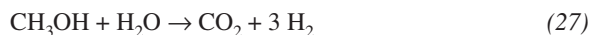
H<sub>2</sub>O) také na vodík a CO. Provoz vysokoteplotních článků na „čistý“ zemní plyn by byl teoreticky výhodný (viz tabulka I a II), bohužel praktické zkušenosti ukázaly na snadný vznik uhlíku (sazí), na ničení cermetových anod vlivem tepelných napětí<sup>1,33</sup> (způsobených průběhem endotermních a exotermních reakcí) a na deaktivaci anod. Zvláště zbytky vyšších uhlovodíků v zemním plynu (ethan, propan, butan apod.) jsou náchylné již za nižších teplot ke vzniku uhlíku. Niklové materiály elektrod mají tendenci ke tvorbě uhlíkatých usad a deaktivaci<sup>33,34</sup>. Proto je obvykle nutností zemní plyn (a hlavně jeho vyšší uhlovodíky) aspoň částečně přeměňovat (reformovat) reakcí s vodní parou nebo CO<sub>2</sub> na reaktivnější a bezproblémovější plynná paliva – vodík a CO:



Podobně jsou vodní parou reformovány i vyšší uhlovodíky – např. butan:



Také nižší alkoholy (methanol, ethanol) mohou být používány buď přímo po vypaření jako palivo, nebo až po reformování vodní parou:



Reakční tepla (enthalpie) pro uvedené reakce probíhající při 300 a 1000 K jsou uvedena v tabulce V. Po stránce spotřeby tepla je zvláště reformování methanolu energeticky nenáročný, probíhající za relativně nižších teplot a poskytuje navíc ve vysokém výtěžku vodík. Proto se o methanolu uvažuje jako o možném palivu nejen pro vysokoteplotní, ale hlavně pro nízkoteplotní palivové články, které vyžadují čisté vodíkové palivo.

Srovnání tabulky V s tabulkou I ukazuje rozdíly ve spalných tepech (enthalpiích) plynných paliv před reformováním a po něm. Všechny reformační reakce s vodou jsou endotermní, přičemž se vzrůstající teplotou roste jejich požadavek na dodání tepla. Při reformování je většinou přebytek vodních par, takže část CO reaguje dále na CO<sub>2</sub>.

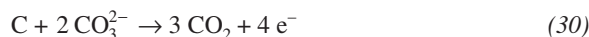
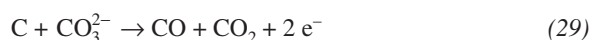
#### 4.2. Tuhá paliva

Přímá elektrochemická oxidace uhlíku v palivových člancích na CO nebo CO<sub>2</sub> by byla energeticky velmi zajímavá, nabízející termodynamickou přednost ve změně Gibbsovy volné energie  $\Delta G_T$ , dokonce větší, než je enthalpie reakce (viz tabulka I). Tímto způsobem, protože změna entropie u oxidace pevného uhlíku je kladná, by se vlastně teplo dodané z vnějšku mohlo měnit na užitečnou práci<sup>5</sup>. Ve skutečnosti je praktická realizace přímé elektrochemické oxidace uhlíku velmi obtížná. Při užití palivového článku typu MCFC by jako anoda musel sloužit přímo uhlík, který by byl ve styku s elektrolytem; a na rozhraní uhlíku a elektrolytu by probíhala anodová reakce – oxidace<sup>4</sup> na CO nebo CO<sub>2</sub>:

Tabulka V

Reakční tepla<sup>7</sup> reakcí při reformování a spalná tepla<sup>7</sup> produktů reakcí vztahovaná na mol příslušného primárního paliva

Reformování (číslo rovnice)	$\Delta H_f$ [kJ.mol <sup>-1</sup> ]		Spalné teplo produktů při 1000 K [kJ]
	300 K	1000 K	
CH <sub>4</sub> + H <sub>2</sub> O (24)	206,244	225,713	-1026,179
CH <sub>4</sub> + CO <sub>2</sub> (25)	252,376	260,46	-1060,926
C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> + 4 H <sub>2</sub> O (26)	651,552	699,328	-3361,142
CH <sub>3</sub> OH + H <sub>2</sub> O (27)	49,574	70,484	-743,574
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH + H <sub>2</sub> O (28)	255,688	278,74	-1556,642



Na anodu by se teoreticky nemusel přivádět žádný plyn a pouze by se odváděla plynná směs CO a CO<sub>2</sub>. Ve skutečnosti by se anodový prostor s porézni uhlíkovou anodou musel promývat inertním plynem (např. N<sub>2</sub>). Uhlíková anoda by samozřejmě musela být z relativně čistého uhlíku (bez síry, těžkých kovů a kovů alkalických zemin). Ještě složitější a také pravděpodobně méně účinné by bylo zařízení v případě článků typu SOFC, kde by muselo docházet ke kontaktu kompaktní uhlíkové anody s pevným elektrolytem, přičemž anoda by se spotřebovávala elektrochemickou reakcí. Určité, relativně elegantní technické řešení přímé oxidace uhlíku (nebo předčištěného uhlí) v člancích typu SOFC uvádí patentová literatura<sup>35</sup>. Anody článků jsou vlastně ponořeny do fluidní vrstvy uhlíkových částic v inertním plynu. V blízkosti styku částic uhlíku s anodami se řízení (pro lepší oxidaci, rychlejší reakci a pro zajištění potřebné teploty) může přivádět přes porézni keramiku část oxidačního plynu z katodového prostoru. Takové řešení i při zvládnutí složitých technických problémů by ovšem vždy vyžadovalo použití relativně čistého uhlíku, kterým nemůže být normální uhlí.

Proto se dnes spíše než o přímém využití tuhých paliv elektrochemickou reakcí uvažuje a prakticky zkouší kombinace zplyňování uhlí<sup>1,36,37</sup> nebo biomasy<sup>31,38</sup> a využití vzniklých plynů ve vysokoteplotních palivových člancích. U zplyňování uhlí závisí čistota produktů hlavně na teplotě a způsobu zplyňování. Ze zplyňovacích systémů pro uhlí jsou dnes využívány tři základní typy<sup>1</sup>: zplyňování v sesuvném loži uhlí, zplyňování ve fluidní vrstvě a zplyňování částic uhlí za úletu. Zplyňování v sesuvné vrstvě, vlivem protiproudu toku částic uhlí a plynu, má nevýhodu ve velkém obsahu dehtů a fenolických látek v plynech. Zplyňování ve fluidní vrstvě za teplot 800–950 °C je po této stránce lepší, avšak nejčistší plyn, prakticky bez dehtů, fenolů apod. je získáván ze zplyňování malých částic uhlí v úletovém režimu při teplotách nad 1200 °C. Zplyňování se provádí kontaktovaním uhlí se směsí kyslíku a vodních par (tím se dostane vysoce výhřevný plyn s nízkým obsahem dusíku) nebo pomocí směsi vzduch–vodní pára. Plyn vyráběný tímto způsobem obsahuje obvykle nad 60 % dusíku. Typické složení plynů ze zplyňování v různých typech zaříze-

Tabulka VI

Typické složení uhelného plynu (obj.%) po zplyňování uhlí různými technologiemi<sup>1</sup>

Složení	Sesuvné lože O <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O	Fluidní vrstva O <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O	Úlet částic	
			O <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O	vzduch + H <sub>2</sub> O
Uhlí:	Illinois No. 6	Texas	Illinois No. 6	Illinois No. 6
<i>Složení plynu</i>				
Ar	stopy	0,7	0,9	stopy
CH <sub>4</sub>	3,3	4,6	0,1	1,0
C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> + C <sub>2</sub> H <sub>6</sub>	0,3			
H <sub>2</sub>	21,0	28,3	30,3	9,0
CO	5,8	33,1	39,6	16,0
CO <sub>2</sub>	11,8	15,5	10,8	6,0
N <sub>2</sub>	0,2	0,6	0,7	6,2
NH <sub>3</sub>	0,4	0,1	0,1	
H <sub>2</sub> O	61,8	16,8	16,5	5,0
H <sub>2</sub> S	0,5	0,2	1,0	~0,2

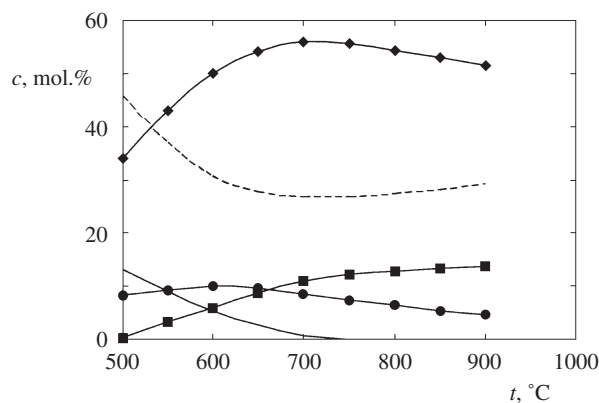
ní je uvedeno v tabulce VI. Vzniklý uhelný plyn se musí zbavit sirovodíku, zbytků dehtů a také vyšších uhlovodíků, které by se mohly za nižších teplot rozkládat na uhlík. Integrace zplyňování uhlí, čištění plynů a vysokoteplotních palivových článků<sup>36,37,39</sup> je v pokročilém stavu poloprovozního a provozního výzkumu. Velký důraz je kladen na efektivní a účinné čištění uhelného plynu. Zplyňování biomasy<sup>31</sup> a hlavně dřeva<sup>37</sup> je také zamýšleno k využití pro vysokoteplotní palivové články. Biomasa je při zplyňování velmi reaktivní. Pro vysokou rychlost reakcí stačí teploty již okolo 700–800 °C. Důležitým problémem je předcházet vzniku sazí, hlavně při nižších teplotách zplyňování; k tomu bývá zapotřebí vyšší hmotový nebo molární poměr H<sub>2</sub>O/biomasa. Při zplyňování pomocí CO<sub>2</sub> musí být analogický poměr CO<sub>2</sub>/biomasa pro dosažení stejného účinku<sup>31</sup> asi dvakrát vyšší.

Vyšší teploty zplyňování vedou jak u uhlí, tak u biomasy k vyšším výtěžkům CO a nižším výtěžkům CO<sub>2</sub>, v případě vodíku bývá nalézána teplota (např. okolo 800 °C) s maximálním výtěžkem vodíku<sup>31</sup>. Výhodou plynů ze zplyňování biomasy typu dřeva je velmi nízký až zanedbatelný obsah sloučenin síry a těžkých kovů. Obsah dehtů a kyslíkatých a heterocyklických sloučenin však může být relativně vyšší.

Jako palivo pro VPC se po vyčištění hodí i některé další bioplyny – např. z anaerobního čištění odpadních vod nebo skládkové plyny. Charakteristické pro tyto plyny je, že obecně obsahují jako hlavní složky methan a CO<sub>2</sub>, minoritní složky bývají různé, často sirovodík, čpavek. Bez náležitého čištění se ani tyto plyny nedají použít ve vysokoteplotních palivových článcích přímo. Vyšší obsah oxidu uhličitého (15–40 %) však není na překážku jejich využití.

#### 4.3. Parní reformování paliv

Parním reformováním paliv (hlavně uhlovodíků a alkoholů – viz tabulka V) se rozumí jejich převedení na jednodušší paliva (většinou hlavně směs CO, H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>) s vyšší výhřevností, než mělo původní palivo. Parní reformování je běžně používaná metoda<sup>40</sup> výroby plynného paliva pro palivové články. Provádí se za teplot nad 500 °C, často za teplot 700–800 °C.



Obr. 8. Rovnovážné koncentrace plynů *c* při reformování methanu vodní parou za teplot nad 500 °C (*P* = 0,1 MPa); uvažován přibližně dvojnásobný přebytek vodní páry<sup>1</sup>, — CH<sub>4</sub>, ■ CO, ● CO<sub>2</sub>, --- H<sub>2</sub>O, ◆ H<sub>2</sub>

Příklad složení plynů po reformování methanu přebytkem vodních par a změny ve složení plynů s teplotou jsou ukázány na obr. 8.

Reformování je silně endotermní reakcí a vyžaduje přívod tepla a vhodné katalyzátory. Jedním z nejdůležitějších problémů reformování je předcházet produkci uhlíku (sazí) vlivem krakování a pyrolýzy uhlovodíků a rozkladu CO:



Endotermní pyrolýza methanu je významná za teplot asi nad 700 °C (pyrolýza jiných uhlovodíků probíhá za nižších teplot) a exotermní rozklad CO je významný hlavně za nižších teplot, pod 600 °C. Tvorbě uhlíku se dá zabránit jednak přebytkem vodních par při reformování<sup>40</sup> a úpravou katalyzátoru, jednak tzv. předreformováním vedoucím k odstranění vyšších uhlovodíků s velkou tendencí tvorby uhlíkatých úsad a snižou-

jícím spotřebu tepla při vlastním vnitřním reformování<sup>40</sup>. Niklové katalyzátory mají většinou tendenci podporovat vznik a usazování uhlíku. Proto je nutné je dopovat (např. alkalickými kovy apod.), nebo při silné tendenci k tvorbě sazí použít jiné katalyzátory (např. Ru na  $ZrO_2$  a  $Al_2O_3$ ).

V případě VPC není nutné odstraňovat CO, protože tento plyn je také využitelný. Vysokoteplotní palivové články dovolují dokonce provádění parního reformování uvnitř článků (internal reforming). Vnitřní reformování má dvě základní koncepce: přímé (DIR) a nepřímé (IIR) vnitřní reformování. Při DIR se reformování děje na anodě nebo v blízkosti anody. Teplo a pára potřebné pro reakci jsou dodávány přímo elektrochemickou reakcí. Při IIR probíhají reformovací reakce v oddělené komůrce, která je ovšem v dobrém, hlavně tepelném kontaktu s palivovým článkem. Pára však není dodávána z palivového článku a také vznikající vodík není bezprostředně ve styku s anodou. Vnitřní reformování nabízí následující přednosti oproti vnějšímu reformování<sup>28</sup>:

- systémové náklady jsou menší, ušetří se přídavné zařízení,
- u metody DIR je zapotřebí méně externí páry nebo dokonce žádná externí pára,
- rozdělení vodíku v palivovém článku u DIR je rovnoměrnější (je využita plocha anody),
- bývá relativně vysoká konverze, protože vodík jako produkt reakce je odstraňován přednostně elektrochemickou reakcí.

Mezi nevýhody vnitřního reformování patří:

- úprava anody na katalyzátor nebo další přídavný katalyzátor,
- katalyzátor se může deaktivovat nebo může být otráven (např. sírou, alkalickými kovy u MCFC apod.), může sintrovat, může být vystaven teplotním stresům atd.,
- ačkoliv reformování je endotermní a elektrochemický proces je exotermní, jejich integrace může omezovat flexibilitu provozu palivového článku.

#### Vnitřní reformování paliv u MCFC

Anoda je u těchto palivových článků tvořena porézním niklem nebo speciálními slitinami na bázi niklu. Materiál anody musí mít dostatečné katalytické vlastnosti pro reformování, musí pracovat v korozivním prostředí s roztavenými alkáliemi z elektrolytu. Vyrovnanějšího teplotního pole se dosahuje recyklací anodového plynu<sup>41</sup>, recyklací katodového i anodového plynu<sup>41</sup>, předběžnou částečnou externí předreformací uhlovodíkového paliva<sup>1,33</sup> a dokonce také řízenou mírnou deaktivací niklového katalyzátoru<sup>42,43</sup> (materiálu anody) plynným palivem obsahujícím do asi 60 obj. ppm síry. Hlavně vždy jde o úpravu katalyzátoru blízko vstupu plynného paliva do anodového prostoru nebo do prostoru reformační komůrky, protože pokles teploty, tepelné namáhání a deaktivace se projevují hlavně tam. Katalyzátor (anoda) může být proti účinkům alkalických tavenin, par a uhlíku chráněn povrchovou vrstvou platinového kovu (např. Ru, Rh), zlata, stříbra apod. Stárnutí niklového katalyzátoru se projevuje také sintrováním (hrubnutím) zrn.

#### Vnitřní reformování paliv u SOFC

Vysokoteplotní články typu SOFC používají většinou nikl-keramických (Ni-ZrO<sub>2</sub> cermetových) anod. Pro přímé refor-

mování na anodě bývají dostatečně trvanlivé. Pro nižší teploty je také možné použít Ce-Ni cermetové katalyzátory dopované vápníkem. Vzhledem k typickým provozním teplotám nad 800 °C může přímé vnitřní (DIR) reformování probíhat na anodě, přídavného katalyzátoru není třeba. Aktivita katalyzátoru se může řízeně snižovat např. použitím menší koncentrace síry v plynu<sup>42,43</sup>. Pro praktický provoz (hlavně u plynů obsahujících vyšší uhlovodíky) se doporučuje částečné externí reformování (okolo 40–60 % uhlovodíků), aby tepelné efekty při reformování zbytku paliva ve článku již nebyly tak velké a také aby nedocházelo k usazování uhlíku.

## 5. Moderní systémy s vysokoteplotními palivovými články

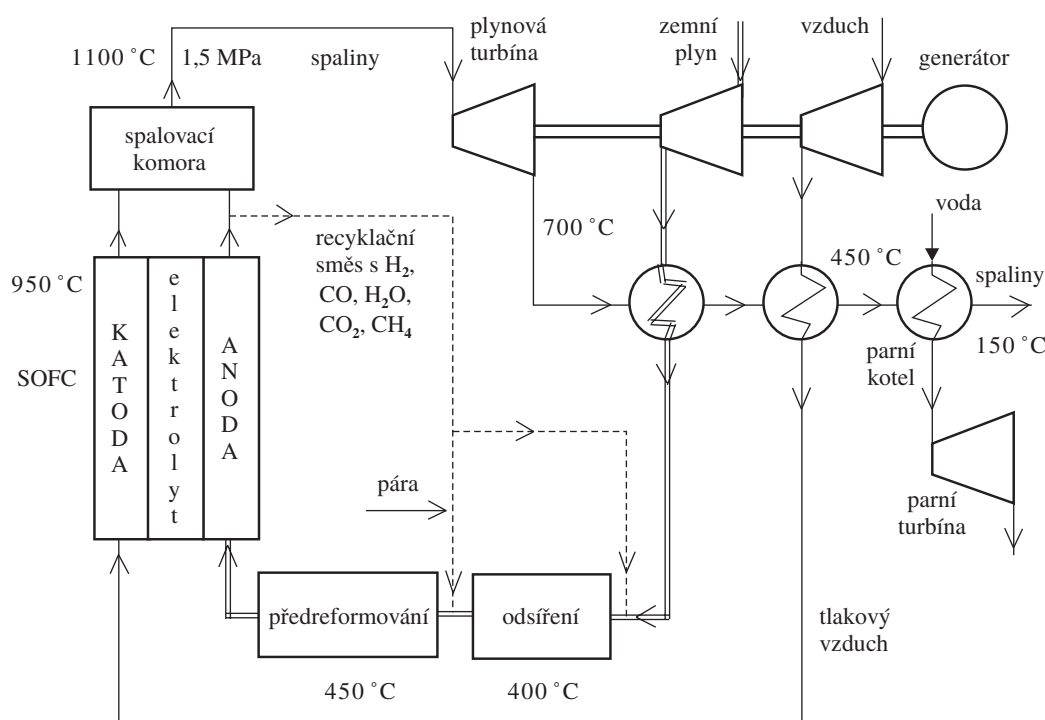
Vysokopotenciálního „odpadního“ tepla plynů odcházejících z vysokoteplotních palivových článků se dá využít poměrně jednoduše např. k reformování plynného uhlovodíkového či jiného paliva, ke zplyňování uhlí či biomasy a k přímým i nepřímým ohřevům pomocí nejrůznějších výměníků tepla. Podle obsahu spalitelných složek (zvláště CO a CH<sub>4</sub>) ve výstupních plynech z vysokoteplotních palivových článků, který nemusí být malý, se dokonce dá teplota těchto „odpadních“ plynů po spálení ještě zvýšit.

U systémů pracujících za tlaků blízkých atmosférickému tlaku je toto teplo možné využít v parním kotli a použít ke generaci páry, pohonu parní turbíny a výrobě další elektrické energie. Odpadního nízkopotenciálního tepla lze samozřejmě použít k různým ohřevům a topením. Integrace souborů vysokoteplotních palivových článků a využití jejich odpadního tepla jsou velmi důležité k dosažení celkové vysoké účinnosti.

Výstupní napětí na souboru (baterii) palivových článků se významně mění podle proudové zátěže, složení palivových plynů, teploty a tlaku. Aby se dosáhlo konstantního stejnosměrného napětí, musí se získané primární napětí regulovat tzv. DC/DC regulátory. K připojení na síť střídavého napětí je nutné pomocí konvertorů (DC/AC konvertory) změnit stejnosměrné napětí na střídavé napětí, a toto pak dále transformovat.

### 5.1. Systémy s využitím energie spalin parní nebo plynovou turbínou

Tepla plynů produkovaných vysokoteplotními články a chemické energie (spalného tepla) nespotebovaného paliva ze článků lze poměrně jednoduše využít v parním kotli k výrobě páry<sup>39,45</sup> a pohonu parní turbíny. U palivových článků hlavně typu SOFC, které mohou bez neřešitelných technických problémů pracovat za zvýšeného tlaku, je možné využít energie horkých stlačených plynných produktů<sup>44–47</sup> z SOFC k expanzi v plynové turbíně a eventuálně (podle teploty plynů na výstupu z plynové turbíny) také dále v parním kotli s návaznou parní turbínou. Vyšší provozní tlak vede obecně k vyššímu pracovnímu napětí (asi o 10–25 %) při stejné proudové hustotě v elektrickém obvodu s vysokoteplotními palivovými články<sup>1,44</sup>. Schéma hybridního energetického zařízení se souborem palivových článků typu SOFC, plynovou a parní turbínou je na obr. 9. Vypočítané a zčásti prakticky ověřené parametry hybridních energetických zařízení typu kombinace souborů SOFC s plynovou (spalovací turbínou) o celkovém elektric-



Obr. 9. Schéma možného hybridního systému<sup>1,46</sup> s vysokoteplotními palivovými články a využitím tepelné energie odpadních plynů v plynové turbíně a parním kotli

Tabulka VII

Parametry zařízení<sup>43</sup> s vysokoteplotními články typu SOFC a využitím energie plyných produktů ve spalovací turbíně

Parametr zařízení a specifikace	Jednotka o výkonu	
	3 MW <sub>el</sub>	10 MW <sub>el</sub>
Čistý výstupní elektrický výkon ve střídavém proudu, MW <sub>el</sub>	3,3	10,3
Čistý elektrický výkon baterie SOFC, MW <sub>el</sub>	1,9	6,8
Výkon spalovací turbíny, MW <sub>el</sub>	1,4	3,6
Tok paliva – zemního plynu, kg.h <sup>-1</sup>	391	1296
Kompresor – průtok vzduchu, kg.h <sup>-1</sup>	18 565	55 440
Tok výstupních plynů, kg.h <sup>-1</sup>	18 950	56 160
Výstupní teplota plynů, °C	210	357
Účinnost zařízení, vztahená k výhřevnosti paliva, %	61	61
Emise NO <sub>x</sub> , obj. ppm	<5	<5

kém výkonu 3 MW<sub>el</sub> a 10 MW<sub>el</sub> jsou uvedeny v tabulce VII. Hybridní jednotky tohoto typu jsou schopny přeměňovat 60–70 % energie paliva (vyjádřené jako výhřevnost) na elektrickou energii.

## 5.2. Systémy kogenerační (teplo a elektrická energie)

Vysokoteplotní palivové články (VPC) mají výhodu ve vysokopotenciálním teplu spalin (produktů). Systémy s vysokoteplotními palivovými články jsou obecně vhodné ke kogeneraci elektrické energie a středně- či vysokopotenciálního tepla. Nicméně i různé decentralizované kogenerační systémy

se dají vhodně postavit „na míru“ zákazníkovi<sup>39,45</sup>. Zavedení efektivních menších jednotek vyrábějících pro místní potřeby elektrickou energii a teplo povede pravděpodobně v budoucnosti k větší decentralizaci zásobování elektrickou energií a teplem.

## 6. Závěr

Vysokoteplotní palivové články, technologie jejich výroby a jejich využití jsou v současné době velmi rychle se vyvíjejícím oborem, který přináší mnohé nové poznatky a zároveň podněty a výzvy k lepšímu řešení mnohých problémů

současných vysokoteplotních palivových článků. Dnešní vysokoteplotní palivové články dvou typů (MCFC a SOFC) jsou schopné pracovat za teplot 600 až 1000 °C. Současnou snahou u článků s pevným elektrolytem typu SOFC je snižování běžné provozní teploty (800–900 °C) na teplotní úroveň 600–750 °C použitím nových materiálů, tenčích vrstev elektrolytů a lepších kontaktů, elektrických a reakčních vlastností elektrod.

Hlavním palivem pro VPČ je doposud směs vodíku a CO vyrobená parním reformováním zemního plynu, případně čistého methanolu. Využití vyčištěných plynů ze zplyňování uhlí a biomasy však již také začíná nabývat na významu. Stupeň využití plynného paliva ve vysokoteplotních palivových článcích se obvykle pohybuje mezi 70 až 90 % podle typu paliva, typu VPČ a celkových podmínek provozu. Hlavním problémem ve využití různých plynných paliv nebo přeměny tuhých paliv jsou relativně vysoké požadavky na čistotu plynů a požadavky na levné a účinné způsoby čištění těchto plynů (hlavně odstraňování síry, dehtu, sazí, uhlovodíků a amoniaku).

V oblasti dalšího vývoje článků hlavně typu SOFC se předpokládá vývoj a praktické aplikace článků s protonovou vodivostí elektrolytu, snižování provozní teploty, zvyšování odolnosti vůči nečistotám v palivu, další zvyšování dlouhodobé spolehlivosti a samozřejmě také lepší konstrukce a menší vnitřní ztráty článků. Tyto oblasti vývoje VPČ jsou motorem jak pro vývoj nových materiálů pro elektrody a elektrolyty, tak i jejich nových celkových uspořádání, kontaktů, bipolárních desek, spojení a těsnění.

Aplikace vysokoteplotních palivových článků se předpokládají hlavně v lokální, decentralizované energetice, částečně ve sféře elektrických pohonů v dopravě. V oblasti energetických aplikací VPČ je hlavní technickou a technologickou výzvou optimální začlenění soustav (sériových baterií) VPČ do účinných a spolehlivých technologií získávání energie z plynných, kapalných, případně i pevných paliv kombinací VPČ s parními kotli, paroplynovými cykly nebo kogenerace tepla a elektrické energie.

Optimální integrace vysokoteplotních článků do energetických systémů a využití jak tepla spalin, tak i zbytkového chemického potenciálu produkovaných plynů (obsahujících vždy i část nespoteřebovaných plynných složek) a případné začlenění i nízkoteplotních, vysoce účinných palivových článků do těchto soustav je stále předmětem intenzivního technického výzkumu a vývoje.

*Tato práce vznikla za podpory GA AV ČR – grant č. A 407 2801.*

#### LITERATURA

- Larminie J., Dicks A.: *Fuel Cell Systems Explained*. Wiley, Chichester 2001.
- Appleby A. J., Foulkes F. R.: *A Fuel Cell Handbook*, 2.vyd. Kreiger, Huntington 1993.
- Haynes C.: *J. Power Sources* 92, 199 (2001).
- Demin A., Tsiakaras P.: *Int. J. Hydrogen Energy* 26, 1103 (2001).
- Peelen W. H. A., Hemmes K., de Wit J. H. W.: *High Temp. Mater. Process.* 2, 471 (1998).
- Lutz A. E., Larson R. S., Keller J. O.: *Int. J. Hydrogen Energy*, v tisku (2002).
- Barin I.: *Thermochemical Data of Pure Substances*, 3. vyd. VCH, Weinheim 1995.
- de Haart L. G. J., Vinke I. C., Janke A., Ringel H. Tietz F., v knize: *Solid Oxide Fuel Cells VII* (Yokokawa H., Singhal S. C., ed.), str. 111. The Electrochemical Society, Pennington 2001.
- Lee C. G., Nishina T., Uchida I., Kuroe S.: *J. Electrochem. Soc.* 43, 2747 (1998).
- Wagner N., Schnurnberger W., Muller B., Lang M.: *Electrochim. Acta* 43, 3785 (1998).
- Murray E. P., Tsai T., Barnett S. A.: *Nature* 400, 649 (1999).
- Bosio B., Costamagna P., Parodi F., Passalacqua B.: *J. Power Sources* 74, 175 (1998).
- Mathur A., Bali S., Balakrishnan M., Perumal R., Batra V.: *Int. J. Energy Res.* 23, 1177 (1999).
- Lobachyov K. V., Richter H. J.: *Energy Convers. Manage.* 39, 1931 (1998).
- Dicks A. L., Siddle A.: *Assessment of Commercial Prospects of Molten Carbonate Fuel Cells* (ETSU Report No. F/03/00168/REP). AEA Technology, Harwell 1999.
- Lobachyov K., Richter H. J.: *J. Energ. Resour. Technol.* 118, 285 (1996).
- Lowrie F. L., Rawlings R. D.: *J. Eur. Ceram. Soc.* 20, 751 (2000).
- McEvoy A. J.: *J. Mater. Sci.* 36, 1087 (2001).
- Veyo S. E., Forbes C. A.: *Proceedings of the 3<sup>rd</sup> European Solid Oxide Fuel Cell Forum Lausanne 1998*, str. 79.
- Biedenkopf P., Spiegel M., Grabke H. J.: *Mater. Corros.* 48, 488 (1997).
- Kunz H. R.: *J. Electrochem. Soc.* 134, 105 (1987).
- Greiner H., Kempter K.: US 6,218 037 (2001).
- Yamamoto O.: *Electrochim. Acta* 45, 2423 (2000).
- Tiffé E. I., Weber A., Herbstreit D.: *J. Eur. Ceram. Soc.* 21, 1805 (2001).
- Feng M., Goodenough J., Huank K., Milliken C.: *J. Power Sources* 64, 47 (1996).
- Das D., Edwards J., Kindermann L., Hilpert K., Putz G.: US 5,824 429 (1998).
- Isenberg H. O.: US 4,490 444 (1984).
- Greiner H.: US 6,156 448 (2000).
- Ringel H.: US 5,932 366 (1999).
- Batawi E., Honegger K.: US 5,932 368 (1999).
- Alderucci V., Antonucci P.L., Maggio G., Giordano N., Antonucci V.: *Int. J. Hydrogen Energy* 19, 369 (1994).
- Novikov G. I., Gamanovič N. M.: *Zh. Prikl. Khim.* 70, 1098 (1997).
- Clarke S. H., Dicks A. L., Pointon K., Smith T. A., Swan A.: *Catal. Today* 38, 411 (1997).
- Dicks A. L.: *J. Power Sources* 71, 111 (1998).
- Gür T. M., Huggins R. A.: US 5,376 469 (1994).
- Wolk R. H., McDaniel J.: *Energy Convers. Manage.* 33, 705 (1992).
- Lobachyov K. V., Richter J.: *Energy Convers. Manage.* 38, 1693 (1997).
- McIllveen D. R., Williams B. C., McMullan J. T.: *Renewable Energy* 19, 223 (2000).
- Jansen D., Mozaffarian M.: *Energy Convers. Manage.* 38, 957 (1997).
- Ahmed S., Krumpelt M.: *Int. J. Hydrogen Energy* 26, 291 (2001).

41. Kriechbaum K., Filip G.: US 6,136 462 (2000).
42. Nielsen J. R., Christiansen L. J., Petersen K. A.: US 5,688 609 (1997).
43. Hsu M. S.: US 5,747 185 (1998).
44. Bevc F.: Proc. Inst. Mech. Eng. 211, Part A, 359 (1997).
45. Hassmann K., Heidug W. K., Veyo S.: Brennst.-Wärme-Kraft 51, 40 (1999).
46. Wolfe D., Minh N., Meister K., Matulich D.: US 5,968 680 (1999).
47. Stock A.: US 6,124 050 (2000).

**K. Svoboda, M. Hartman, O. Trnka, and J. Čermák**  
*(Institute of Chemical Process Fundamentals, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague): High-Temperature Fuel Cells, Their Status, Fuels and Applications*

This review updates information on the state of development, properties, materials and possible applications of two basic types of high-temperature fuel cells: solid oxide fuel cells (SOFC) and molten carbonate fuel cells (MCFC). The main

fuels for such cells are still hydrogen, carbon monoxide and their mixtures, which can be produced from natural gas by steam reforming. A new potential liquid fuel for such cells is in particular methanol. Hydrocarbon fuels have to be reformed with steam prior to utilisation in high-temperature fuel cells. Solid fuels, such as coal and wood, can be practically used as fuels for the cells only after gasification and efficient cleaning of the gaseous fuel. The optimum temperature for MCFC is about 650 °C, for SOFC usually between 750 and 900 °C, depending on materials. The theoretical thermodynamic maximum efficiencies of the fuel cells for conversion of chemical energy to useful work is high, exceeding 66 %. The real behaviour and efficiency depend on internal losses, construction and current load of the cells. The highest attainable current densities in electric circuits with MCFC and SOFC are still relatively low, below 800–1000 mA.cm<sup>-2</sup>. Great potential of high-temperature fuel cells is in utilization of waste heat of the produced gases in steam boiler, gas turbine (for pressurized systems) and in cogeneration of electrical energy and heat. Overall real attainable efficiency of the heat-to-power conversion estimated for such combined systems exceeds 60 %.

Vážení autoři,

v letošním roce opět vyjde *monotematické číslo 7/2003* ve spolupráci s Ministerstvem zemědělství České republiky:

***Chemie v zemědělství a potravinářství.***

Žádáme Vás o příspěvky a jejich zaslání do redakce do **28.3.2003**.

*redakce*

# METABOLISMUS BILIRUBINU A ZPŮSOBY ELIMINACE JEHO TOXICITY

LIBOR VÍTEK<sup>a</sup>, LUCIE SEDLÁČKOVÁ<sup>b</sup>,  
PAVEL BRANNÝ<sup>c</sup> a TOMÁŠ RUML<sup>b,\*</sup>

<sup>a</sup>Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky a IV. Interní klinika, 1. Lékařská fakulta Univerzity Karlovy, U nemocnice 2, 128 08 Praha 2, <sup>b</sup>Ústav biochemie a mikrobiologie a Centrum integrované genomiky, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6, <sup>c</sup>Mikrobiologický ústav, Akademie věd České republiky, Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4

e-mail: vitek@cesnet.cz, luciesedlackova@hotmail.com, branny@biomed.cas.cz, tomas.ruml@vscht.cz

Došlo dne 25.IV.2002

**Klíčová slova:** bilirubin, novorozenecká žloutenka, hyperbilirubinémie, Crigler-Najjarův syndrom, enterohepatální cirkulace bilirubinu, enterosystémová cirkulace bilirubinu, střevní mikroflóra, kolonizace

## Obsah

1. Úvod
2. Fyzikálně-chemické vlastnosti bilirubinu
3. Metabolismus bilirubinu
4. Nekonjugované hyperbilirubinémie
5. Závěr

## 1. Úvod

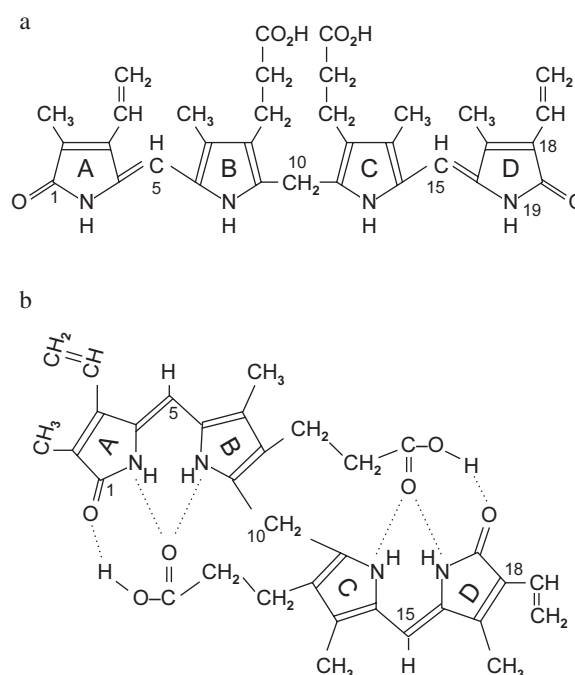
Bilirubin je hlavní organický produkt katabolismu hemu v systémové cirkulaci a jeho produkce, metabolismus i vylučování jsou udržovány v rovnováze. Při narušení této rovnováhy dochází k akumulaci bilirubinu v séru a hovoříme o tzv. hyperbilirubinémii. Ačkoli mírná elevace hladin bilirubinu v séru má v důsledku jeho silných antioxidačních vlastností pro organismus protektivní charakter<sup>1</sup>, dochází při překročení určité hladiny bilirubinu v séru k nebezpečí rozvoje toxických účinků zejména v oblasti centrálního nervového systému<sup>2</sup>. Tímto nebezpečím jsou ohroženi především jedinci s novorozeneckou hyperbilirubinémií a dále pak pacienti s těžkými vrozenými nekonjugovanými hyperbilirubinémiemi. Aby bylo možno dokonale pochopit patogenezi těchto onemocnění, je nutné připomenout některá základní fakta týkající se fyzikálně-chemických vlastností bilirubinu a jeho metabolismu.

## 2. Fyzikálně-chemické vlastnosti bilirubinu

Nekonjugovaný bilirubin je lineární tetrapyrrolový pigment nepolárního charakteru. Přirozeně se vyskytující bilirubin

je označován jako bilirubin IX $\alpha$  (4Z,15Z) (obr. 1a), což vyjadřuje, že vzniká z isomeru IX protoporphyrinu, který se nachází v hemu a hemoproteinech, a to štěpením  $\alpha$ -methinového můstku porfyrinového makrocyklu s dvojnými vazbami v poloze 4 a 15 v konfiguraci Z (obr. 1b) (cit.<sup>3</sup>). Tato struktura a konfigurace umožňuje vznik vodíkových vazeb mezi postranním řetězcem tvořeným kyselinou propionovou na kruhu B a polárními skupinami na kruhu D a mezi postranním řetězcem tvořeným kyselinou propionovou na kruhu C a polárními skupinami na kruhu A (obr. 1b). Tyto intramolekulární vodíkové vazby způsobují významné konformační změny, které blokují expozici polárních skupin molekuly vodným rozpouštědlem a zároveň tvoří rigidní strukturu molekuly; tato konformace a konfigurace je tudíž základem hydrofobního chování bilirubinu<sup>3</sup>.

Vzhledem k tetrapyrrolové struktuře se nekonjugovaný bilirubin může vyskytovat v několika isomerech. Převládajícím isomerem v plazmě je bilirubin IX $\alpha$ . Ostatní známé isomery bilirubinu, bilirubin IX $\beta$ , IX $\gamma$ , IX $\delta$ , se nacházejí ve žluči pouze ve stopových množstvích. Vznikají otevřením porfyrinového kruhu v jiné poloze než v oblasti  $\alpha$ -methinového můstku. Tyto isomery nevytvářejí intramolekulární vodíkové můstky, jsou tedy ve vodě rozpustnější a nevyžadují konjugaci pro vyloučení žlučí<sup>3</sup>.



Obr. 1. **Struktura a konformace bilirubinu:** a) konvenční „lineární tetrapyrrolová“ struktura přirozeně se vyskytujícího isomeru bilirubinu IX $\alpha$ , b) planární reprezentace trojrozměrné konformace molekuly bilirubinu IX $\alpha$  se zobrazenými vodíkovými můstky

\* Autor pro korespondenci



### 3. Metabolismus bilirubinu

Denní tvorba bilirubinu dosahuje u dospělých lidí přibližně 4 mg na kilogram tělesné váhy a není vázána na určitý orgán<sup>4</sup>. Buňky retikuloendoteliálního systému kostní dřeně, sleziny a jater jsou obzvláště uzpůsobeny pro degradaci hemu, avšak také jiné buňky disponují enzymy, jejichž působením vzniká bilirubin. Za normálních podmínek je přibližně 80 % celkového bilirubinu produkováno odbouráváním hemu, prostatické skupiny hemoglobinu, který je uvolňován do cirkulace degradací stárnoucích červených krvinek<sup>4</sup>. Zbylých 20 % produkce bilirubinu pochází z konverze bílkovin obsahujících hem jako např. myoglobin, cytochromy a některé enzymy (například katalasa či peroxidasa)<sup>4</sup>.

Hem je červenohnědý cyklický tetrapyrrolový porfyrin s centrálně navázaným atomem železa. K jeho degradaci na biliverdin IX $\alpha$ , tmavě zelený pigment, dochází pomocí mikrosomálního enzymu hemoxygenasy (obr. 2). Tento enzym katalyzuje oxidativní štěpení  $\alpha$ -methinového můstku za produkce oxidu uhelnatého<sup>5</sup>, který difunduje z buněk a je transportován krví do plic, jimiž je vyloučen. Poté dochází k redukci centrální methinové skupiny biliverdinu IX $\alpha$  biliverdin reduktasou za vzniku bilirubinu IX $\alpha$  (obr. 2) (cit.<sup>5</sup>).

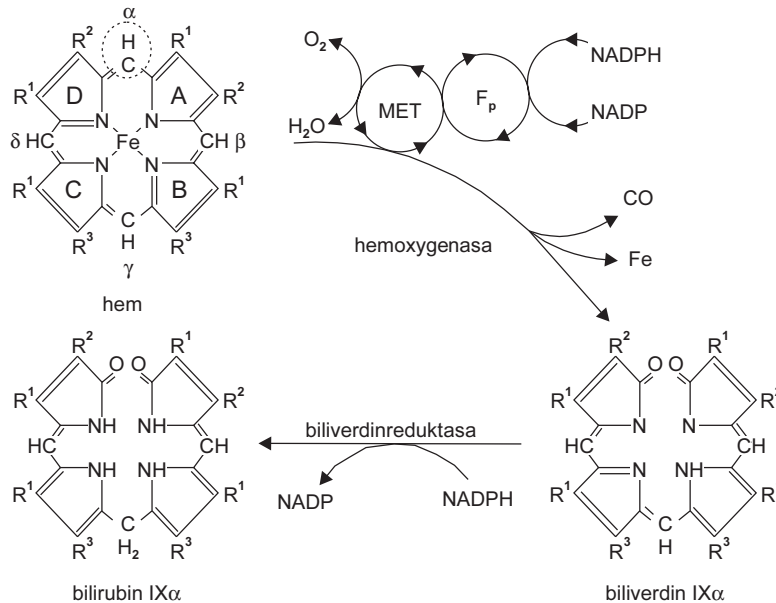
U nižších živočichů, jako jsou obojživelníci, plazi a ptáci, nedochází ke tvorbě bilirubinu, ale vylučován je biliverdin, ve vodě rozpustný netoxický prekurzor bilirubinu<sup>6</sup>. Důvodem je zřejmě vývoj placenty, neboť polární biliverdin nepřestupuje placentární bariéru, zatímco nekonjugovaný bilirubin ano, čímž se zabráňuje akumulaci degradačních produktů hemu v těle plodu<sup>7</sup>. Další příčinou produkce bilirubinu jsou pravděpodobně jeho antioxidační vlastnosti. Jak již bylo uvedeno, bilirubin účinkuje jako velmi silný endogenní antioxidant, silnější než biliverdin, a hraje významnou protektivní roli v patogenezi celé řady onemocnění<sup>1</sup>. Koncentrace oxidu uhelnatého v krvi, vznikajícího reakcí hemoxygenasy, je nepatrná,

a tudíž nepůsobí toxicky<sup>6</sup>. I při takto nízkých hladinách však hraje důležitou roli při buněčné signalizaci v centrálním nervovém systému<sup>8</sup> a v modulaci cévního tonu<sup>9</sup>. Stanovení produkce oxidu uhelnatého lze také využít v diagnostice novorozeneckých hemolytických anémií<sup>10</sup>.

Po degradaci hemu v retikuloendoteliálním systému se bilirubin dostává do systémové cirkulace a je transportován do jater. V plazmě se váže zejména na albumin jako hlavní transportní bílkovinu<sup>11</sup>. Vazba bilirubinu na albumin je biologicky důležitá, protože solubilizuje nepolární nekonjugovaný bilirubin, a umožňuje tak jeho transport ve vodném prostředí. Za nepřítomnosti albuminu je rozpustnost bilirubinu menší než 1  $\mu\text{mol.l}^{-1}$ . Stejně jako ostatní sloučeniny pevně vázané na plazmatický albumin není nekonjugovaný bilirubin filtrován ledvinami a hlavní cestou jeho vylučování je sekrece játry do žluči<sup>12</sup>.

Játra jsou přizpůsobena pro transport bilirubinu ze systémové cirkulace do žluči, a tento transport probíhá disociací vazby s albuminem a translokací přes cytoplazmatickou membránu hepatocytu. Předpokládá se, že na sinusoidálním pólu existuje několik aktivních transportních systémů pro bilirubin. Tyto transportéry patří do velké skupiny transportérů pro organické anionty, jejichž funkce a význam jsou v současnosti předmětem intenzivního výzkumu<sup>12</sup>.

V jaterní buňce je nekonjugovaný bilirubin solubilizován vazbou na specifické intracelulární proteiny (ligandiny)<sup>12</sup>. Jde o cytosolové proteiny označované jako proteiny Y a Z. Protein Y je cytosolový protein patřící do proteinové rodiny glutathion-*S*-transferasy. Tyto bílkoviny s molekulovou hmotností zhruba 45 kDa představují asi 2 % zásoby cytosolových proteinů člověka<sup>12</sup>. Protein Z je nízkomolekulární cytosolový protein o molekulové hmotnosti 12 kDa, jehož funkcí je také intracelulární vazba bilirubinu v hepatocytu<sup>12</sup>. Byl identifikován jako jaterní isoforma cytoplazmatického proteinu vázajícího mastné kyseliny (FABP<sub>c</sub>) a patří do rozsáhlé rodiny příbuz-



Obr. 2. Katabolická přeměna hemu na bilirubin-IX $\alpha$ , MET = mikrosomální elektronový transportní systém; R<sup>1</sup> = -CH<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> = -CH=CH<sub>2</sub>, R<sup>3</sup> = -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-COOH, F<sub>p</sub> = flavoprotein

ných bílkovin, které hrají důležitou roli například v metabolismu retinoidů a volných mastných kyselin<sup>12</sup>.

Díky intramolekulárním vodíkovým vazbám spojujícím polární skupiny molekuly bilirubinu je přirozený isomer nekonjugovaného bilirubinu IX $\alpha$ -4Z,15Z minimálně rozpustný ve vodě a nemůže být transportován žlučí; proto musí být převeden na polárnější formu, čehož je dosaženo konjugací s UDP-glukuronovou kyselinou (UDP = uridindifosfát). Tato reakce je katalyzována enzymem bilirubin UDP-glukuronosyltransferasou a při ní dochází k esterifikaci karboxylových skupin postranních karboxyethylových řetězců v pozici C-8 a C-12 a uvolnění intramolekulárních vodíkových můstků<sup>12</sup>. Bilirubindiglukuronid představuje u lidí hlavní konjugát bilirubinu ve žluči (přibližně 80 %), v menší míře se vyskytuje ve formě monoglukuronidu. V lidské žluči se vyskytují také stopová množství ostatních konjugátů bilirubinu, jako jsou monoglukosidy, monoglukosid-monoglukuronidy a xylosidy<sup>12</sup>. Bilirubindiglukuronid je vylučován z hepatocytů do žluči aktivním transportním systémem, který byl nedávno identifikován jako multispecifický transportér organických iontů (cMOAT/MRP2). Kromě bilirubinglukuronidů usnadňuje také transport bromsulfonftaleinu, glutathionu či jeho konjugátů, konjugovaných leukotrienů a konjugovaných hydrofobních žlučových kyselin<sup>12</sup>. Konjugovaný bilirubin vyloučený do žluči se žlučovými cestami dostává do tenkého střeva a odtud do střeva tlustého. Zde je dekonjugován bakteriálním enzymem  $\beta$ -glukuronidasou za odštěpení zbytku kyseliny glukuronové a poté degradován bakteriálními reduktasami na hydroderiváty bilirubinu souborně nazývané urobilinoidy<sup>13</sup>.

Nekonjugovaný bilirubin i urobilinoidy se za určitých okolností zpětně resorbují tlustým střevem a portální krví se dostávají zpět do jater, kde jsou částečně znovu vyloučeny do žluči a částečně se dostávají do systémové cirkulace<sup>14,15</sup>. Hovoříme o enterohepatální, respektive enterosystémové cirkulaci.

Existence enterohepatální cirkulace nekonjugovaného bilirubinu byla definitivně prokázána až pomocí radioaktivně značeného bilirubinu. Bylo zjištěno, že resorbován může být pouze nekonjugovaný bilirubin, zatímco konjugovaný bilirubin musí být předem hydrolyzován, neboť bilirubindiglukuronid nemůže být pro svou velikost a polaritu ze střeva resorbován. K absorpci může docházet v tenkém i v tlustém střevě<sup>15</sup>.

Enterohepatální a enterosystémová cirkulace bilirubinu je však za fyziologických podmínek jen minimální a nemá příliš velký vliv na hladinu bilirubinu v séru. Střevní resorpce bilirubinu však významně stoupá při splnění některé z následujících podmínek:

- 1) absence střevní mikroflóry redukující bilirubin,
- 2) malabsorpce žlučových kyselin, které v zaživacím traktu solubilizují nekonjugovaný bilirubin,
- 3) přerůstání střevní mikroflóry v proximálních částech zaživacího traktu, kde dochází ke zvýšené dekonjugaci bilirubindiglukuronidu bakteriální  $\beta$ -glukuronidasou s následnou vyšší resorpcí nekonjugovaného bilirubinu do portálního řečiště.

Bakterie, které osidlují intestinální trakt, představují velmi složitý, ale relativně stabilní ekosystém. V proximální polovině tenkého střeva se bakterie prakticky nevyskytují (0–10<sup>3</sup> mikroorganismů na 1 ml střevního obsahu) z důvodu kyselého prostředí udržovaného žaludeční šťávou. Distální polovina

tenkého střeva představuje přechodovou zónu, počet bakterií zde postupně roste a složení mikroflóry (hlavně G<sup>-</sup> a anaerobní bakterie) se podobá složení v tlustém střevě. Tlusté střevo je nejhustěji osídlenou částí intestinálního traktu. Obsahuje přibližně 10<sup>10</sup> mikroorganismů na 1 ml střevního obsahu a více než 400 různých bakteriálních druhů. Počet anaerobních bakterií převažuje nad aeroby. Mezi hlavní druhy patří zejména *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium* a v menším počtu *Clostridium*, *Lactobacillus* a *Streptococcus*<sup>16</sup>. Stabilita a složení mikroflóry jsou ovlivněny metabolickou aktivitou vyskytujících se mikroorganismů. Vzájemně ovlivňují svůj růst, a tím mezi sebou udržují rovnováhu, a zároveň tak chrání svého hostitele před infekcemi gastrointestinálními patogeny.

Jak bylo uvedeno výše, podléhá nekonjugovaný bilirubin v lumen zaživacího traktu redukcí střevní mikroflórou na hydroderiváty souborně nazývané urobilinoidy. Metabolismus bilirubinu na urobilinoidy představuje pro bilirubin přirozenou katabolickou cestu, která je skutečně podmíněna střevními baktériemi. Tento fakt byl potvrzen trvalou absencí urobilinoidů ve stolici potkanů bez střevní mikroflóry<sup>17</sup> a také vymizením urobilinoidů ve stolici krys a lidí po podání perorálních antibiotik<sup>18</sup>. Intestinální mikroflóra redukující bilirubin je přítomná v gastrointestinálním traktu dospělého člověka ve velkém množství. Produkce urobilinoidů v zaživacím traktu dospělého člověka dosahuje za normálních podmínek 50–250 mg za den. Navzdory takové enormní produkci urobilinoidů metabolická cesta mikrobiální konverze bilirubinu zůstává stále neobjasněna. Ačkoliv mikrobiální hydrogenace bilirubinu byla připsána rodu *Clostridium* už ve dvacátých letech minulého století<sup>19</sup>, první bakterie s bilirubin redukující katalytickou aktivitou byla izolována<sup>20</sup> až v roce 1960. Šlo o kmen *Clostridium ramosum* izolovaný ze stolice potkanů kmene Gunn. Druhá bakterie s podobnými katalytickými vlastnostmi patřící do rodu *Bacteroides fragilis* byla izolována v roce 1972 (cit.<sup>21</sup>). V nedávné době byly izolovány ze stolice novorozenců dvě nové bakterie redukující bilirubin patřící do rodu *Clostridium* *perfringens* a *C. difficile*<sup>22</sup>.

#### 4. Nekonjugované hyperbilirubinémie

Nekonjugované hyperbilirubinémie dělíme na hyperbilirubinémie vrozené a získané. Mezi vrozené nekonjugované hyperbilirubinémie řadíme defekty glukuronidace bilirubinu v játrech. Podle stupně postižení rozlišujeme mírnou formu nazývanou benigní hyperbilirubinémie (Gilbertův syndrom) a dále mnohem vzácnější, avšak také mnohem závažnější Crigler-Najjarův syndrom I. a II. typu. Medicínsky nejvýznamnější problém představuje novorozenecká žloutenka, což je získaná forma nekonjugované hyperbilirubinémie. Prevalence novorozenecké hyperbilirubinémie přesahující 205  $\mu\text{mol.l}^{-1}$  (což je hodnota určující tzv. patologickou novorozeneckou žloutenku) se pohybuje u zdravých donošených novorozenců v rozmezí 8–20 % (cit.<sup>23,24</sup>). Takto závažná hyperbilirubinémie může vést k poškození centrálního nervového systému s extrapyramidovými poruchami, ke ztrátě sluchu, nebo k poruchám motorického či psychosomatického vývoje<sup>2</sup>.

V patogenезi novorozenecké žloutenky se uplatňují tři základní mechanismy:

- 1) Prvním faktorem je nadprodukce bilirubinu. Jeho denní tvorba dosahuje u zdravých novorozenců v průměru 8–

10 mg bilirubinu na kilogram tělesné váhy, což je více než dvojnásobek normální produkce dospělých. Je to dáno zejména obměnou fetálního hemoglobinu za hemoglobin adultní v raném novorozeneckém období<sup>23</sup>.

- 2) Dalším faktorem je defekt transportu bilirubinu v hepatocytech způsobený insuficiencí aktivních transportérů bilirubinu, jejichž exprese se zvyšuje až po několika týdnech po narození<sup>25</sup> a dále pak defekt glukuronidace bilirubinu způsobený nedostatečnou aktivitou bilirubin-UDP-glukuronosyltransferasy (0,1% hodnoty u dospělých v prvních deseti dnech života); ta se zvyšuje teprve v šestém až čtrnáctém týdnu života<sup>26</sup>.
- 3) Třetím faktorem je absence střevní mikroflóry v novorozeneckém věku. Na rozdíl od dospělých jedinců novorozenci resorbují značné množství nekonjugovaného bilirubinu tenkým střevem, což je způsobeno absencí intestinální mikroflóry<sup>22</sup>, která za normálních okolností snižuje množství nekonjugovaného bilirubinu ve střevním lumen pro zpětnou resorpci do portálního řečiště. Bylo zjištěno, že mikrobiální konverze bilirubinu hraje v neonatálním období důležitou roli v jeho homeostáze a že absence bakteriální redukce je významným faktorem v patogenezi novorozenecké žloutenky<sup>22</sup>. Kolonizace zažívacího traktu bakteriemi redukujícími bilirubin je dosaženo na dostatečné úrovni umožňující produkci urobilinoidů srovnatelnou s hodnotami dospělých až v šestém týdnu po narození<sup>22</sup>. Při narození je v tenkém střevě nejenom málo bakterií redukujících bilirubin (tudíž minimální produkce urobilinoidů), ale je zde také značná aktivita enzymu  $\beta$ -glukuronidasy pocházejícího z mateřského mléka<sup>27</sup>. Ta způsobuje, že nekonjugovaný bilirubin vzniká ve větší míře a může být snáze resorbován<sup>22</sup>.

Základním léčebným opatřením v terapii patologické novorozenecké žloutenky je fototerapie, u těžkých forem one-mocnění výměnné transfúze<sup>28</sup>. Při použití fototerapie je pacient vystaven světelnému záření o vysoké intenzitě a rozmezí vlnových délek 420–470 nm. To vede ke zvýšené oxidaci a isomeraci bilirubinu za vzniku polárních derivátů bilirubinu, které mohou být relativně snadno vyloučeny játry bez další metabolizace<sup>29</sup>. Tato léčebná modalita je běžně používána, a přestože je obecně považována za plně bezpečnou a účinnou, existuje při jejím použití potenciální nebezpečí poškození novorozenců i zdravotnického personálu elektromagnetickým zářením<sup>24</sup>. Další možnou komplikací fototerapie, i když nepříliš častou, je rozvoj tzv. „bronze-baby“ syndromu způsobeného nahromaděním rozpadových produktů bilirubinu během fototerapie<sup>30</sup>. Použití výměnné transfúze je vyhrazeno pouze pro novorozence s hladinami bilirubinu přesahujícími u zdravých, donošených novorozenců  $340 \mu\text{mol.l}^{-1}$  a je zatíženo všemi příslušnými riziky vyplývajícími z invazivního přístupu a převodu krevních derivátů<sup>28</sup>. Existuje také možnost použití metaloporfyrinů za účelem inhibice tvorby bilirubinu vedoucí ke snížení jeho hladiny v séru<sup>31</sup>. Ačkoli byla prokázána účinnost této metody, není běžně používána, hlavně kvůli vysokému výskytu nežádoucích účinků.

Existuje mnoho důkazů ukazujících důležitost enterohepatální a enterosystémové cirkulace bilirubinu v patogenezi novorozenecké žloutenky. Tyto důkazy se opírají zejména o výsledky studií prováděných na laboratorních zvířatech i u člověka za účelem inhibice enterohepatální a enterosystémové cirkulace bilirubinu využívajících podávání střev-

ních sekvestrantů bilirubinu. Bylo prokázáno, že tato inhibice vede k výraznému snížení hladin bilirubinu v séru u jedinců s novorozeneckou hyperbilirubinemií. Šlo o studie s perorálním podáváním agarů<sup>32</sup>, aktivního uhlí<sup>33</sup> nebo cholestyraminu<sup>34</sup>. Účinnost tohoto přístupu se podařilo prokázat také u pacientů s Gilbertovým syndromem při perorálním podávání síranu zinečnatého<sup>35</sup> a u pacientů s Crigler-Najjarovým syndromem při perorálním podávání fosforečnanu vápenatého<sup>36</sup> a cholestyraminu<sup>37</sup> jako střevních sekvestrantů bilirubinu. Podobně bylo prokázáno ve studii na Gunnových potkanech (hyperbilirubinemický kmen s vrozeným defektem bilirubin UDP-glukuronosyltransferasy) snížení sérových hladin bilirubinu po perorálním podání enzymu bilirubinoxidasy v imobilizované formě<sup>38</sup>. Použití střevních sekvestrantů bilirubinu je však zatíženo značným množstvím nežádoucích účinků. Přesto má využití inhibice enterohepatální cirkulace bilirubinu v terapii nekonjugovaných hyperbilirubinemií své opodstatnění. Jako alternativa se jeví využití potence bakteriální redukce bilirubinu ve střevním lumen, což je postup vycházející z fyziologie střevního metabolismu bilirubinu, který by neměl být provázen nežádoucími účinky umělých sorbentů. Tento způsob by mohl mít velké využití zejména u pacientů s novorozeneckou hyperbilirubinemií, neboť v perinatálním období je střevní redukce bilirubinu prakticky nulová.

## 5. Závěr

Problematika těžkých nekonjugovaných hyperbilirubinemií představuje zejména s ohledem na výskyt novorozenecké žloutenky závažný zdravotnický problém s významnými ekonomickými dopady<sup>39</sup>. I když je léčba fototerapií obecně uznávaným standardem, lze očekávat, že zavedením nových a účinných metod založených na inhibici enterohepatální a enterosystémové cirkulace bilirubinu dojde ke snížení výskytu novorozenecké žloutenky i k významnému zlevnění celého léčebného postupu.

*Tato práce byla podpořena grantem GA ČR č. 310/021436 a grantem CEZ:J19/18:223300006 MŠMT.*

## LITERATURA

1. Vítek L., Jirsa M., Jr., Brodanová M., Kaláb M., Mareček Z., Danzig V., Novotný L., Kotal P.: *Atherosclerosis (Berlin) 160*, 449 (2002).
2. Walker P. C.: *Clin. Pharmacokinet.* 13, 26 (1987).
3. Falk H., v knize: *Bile Pigments and Jaundice. Molecular, Metabolic and Medical Aspects* (Ostrow J. D., ed.), kap. 2. Marcel Dekker, New York 1986.
4. Bissell D. M., v knize: *Bile Pigments and Jaundice. Molecular, Metabolic and Medical Aspects* (Ostrow J. D., ed.), kap. 5. Marcel Dekker, New York 1986.
5. Rodgers P. A., Stevenson D. K.: *Clin. Perinatol.* 17, 275 (1990).
6. Marilena G.: *Biochem. Mol. Med.* 61, 136 (1997).
7. Pascolo L., Ferneti C., Garcia-Mediavilla M. V., Ostrow J. D., Tiribelli C.: *FEBS Lett.* 495, 94 (2001).

8. Leffler C. W., Nasjletti A., Yu C., Johnson R. A., Fedinec A. L., Walker N.: *Am. J. Physiol.* 276, 1641 (1999).
9. Pannen B. H., Bauer M.: *Life Sci.* 62, 2025 (1998).
10. Smith D. W., Hopper A. O., Shahin S. M., Cohen R. S., Ostrander C. R., Ariagno R. L., Stevenson D. K.: *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 3, 77 (1984).
11. Berk P. D., Noyer C.: *Semin. Liver. Dis.* 14, 325 (1994).
12. Berk P. D., Noyer C.: *Semin. Liver. Dis.* 14, 331 (1994).
13. Moscovitz A., Weimer M., Lightner A., Petryka Z. J., Davis E., Watson C. J.: *Biochem. Med.* 4, 149 (1970).
14. Brink M. A., Méndez-Sánchez N., Carey M. C.: *Gastroenterology* 110, 1945 (1996).
15. Billing B. H., v knize: *Bile Pigments and Jaundice. Molecular, Metabolic and Medical Aspects* (Ostrow J. D., ed.), kap. 10. Marcel Dekker, New York 1986.
16. Van Eldere J.: Dizertační práce. Leuven University Press, Leuven 1988.
17. Saxerholt H., Midtvedt T., Gustafsson B. E.: *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 44, 573 (1984).
18. Carlstedt-Duke B., Gustafsson B. E., Midtvedt T.: *Scand. J. Gastroenterol.* 20, 92 (1985).
19. Passini F., Czakes J.: *Wien Klin. Wochenschr.* 36, 657 (1923).
20. Gustafsson B. E., Lanke L. S.: *J. Exp. Med.* 112, 975 (1960).
21. Fahmy K., Gray C. H., Nicholson D. C.: *Biochim. Biophys. Acta* 264, (1972).
22. Vitek L., Kotal P., Jirsa M., Malina J., Černá M., Chmelař D., Fevery J.: *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 30, 294 (2000).
23. Maisels M. J.: *Semin. Liver. Dis.* 8, 148 (1988).
24. Gies H. P., Roy C. R.: *Health Phys.* 58, 313 (1990).
25. Levi A. J., Gatmaitan Z., Arias I. M.: *Lancet* 2, 139 (1969).
26. Kawade N., Onishi S.: *Biochem. J.* 196, 257 (1981).
27. Gourley G. R., Arend R. A.: *Lancet* 1, 644 (1986).
28. Kalpoyannis N., Androulakis N., Hadjigerorgiou E., Papadatos J., Oeconomidou O., Nicolopoulos D.: *Clin. Pediatr.* 21, 602 (1982).
29. McDonagh A. F., Lightner D. A.: *Pediatrics* 75, 443 (1985).
30. Radermacher E. H., Noirfalise A., Hornchen H., Maier R. D., Bigalke K. H.: *Klin. Pediatr.* 189, 379 (1977).
31. Martinez J. C., Garcia H. O., Otheguy L. E., Drummond G. S., Kappas A.: *Pediatrics* 103, 1 (1999).
32. Caglayan S., Candemir H., Aksit S., Kansoy S., Asik S., Yaprak I.: *Pediatrics* 92, 86 (1993).
33. Ulstrom R. A., Eisenklam E.: *J. Pediatr. (Berlin)* 65, 27 (1964).
34. Nicolopoulos D., Hadjigeorgiou E., Malamitsi A., Kalpoyannis N., Karli I., Papadakis D.: *J. Pediatr. (Berlin)* 93, 684 (1978).
35. Méndez-Sánchez N., Roldán-Valadez E., Flores-Sánchez M. A., Carey M. C., Uribe M.: *Gastroenterology* 112, 1332 (1997).
36. Van der Veere C. N., Jansen P. L., Sinaasappel M., Van der Meer R., Van der Sijs H., Rammeloo J. A., Goyens P., Van Nieuwkerk C. M., Oude Elferink R. P.: *Gastroenterology* 112, 455 (1997).
37. Arrowsmith W. A., Payne R. B., Littlewood J. M.: *Arch. Dis. Child.* 50, 197 (1975).
38. Soltys P. J., Mullon C., Langer R.: *Artif. Organs* 16, 331 (1992).
39. Newman T. B., Easterling J., Stevenson D. K.: *Am. J. Dis. Child.* 144, 364 (1990).

**L. Vitek<sup>a</sup>, L. Sedláčková<sup>b</sup>, P. Branny<sup>c</sup>, and T. Ruml<sup>b</sup>**  
 (<sup>a</sup>*Institute of Clinical Biochemistry and Laboratory Diagnostics and 4th Department of Internal Medicine, 1st Faculty of Medicine, Charles University, Prague,* <sup>b</sup>*Institute of Biochemistry and Microbiology and Centre of Integrated Genomics, Institute of Chemical Technology, Prague,* <sup>c</sup>*Microbiological Institute, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*): **Metabolism of Bilirubin and Methods of Elimination of Its Toxicity**

Bilirubin is the principal intravascular catabolic product of heme metabolism. In disorders of its degradation, bilirubin accumulates in serum, which leads to hyperbilirubinemia. If it exceeds a certain critical limit, a serious damage of central nervous system may result. There are two clinical situations when these complications may result: the rare Crigler-Najjar syndrome of type I, which is a disease caused by congenital deficiency of a liver enzyme conjugating bilirubin with glucuronic acid, thus enabling its elimination by liver, and, in particular, very frequent neonatal hyperbilirubinemia. This disease has a multifactorial etiology; in its pathogenesis participate primarily (1) overproduction of bilirubin in exchange of fetal for adult hemoglobin, (2) immature liver transport and conjugation systems for bilirubin and, last but not least, (3) absence of intestinal microflora reducing bilirubin in intestinal lumen. The absence of the microbial activity leads to accumulation of bilirubin in intestine and its subsequent resorption in portal and further in systemic circulation (enterohepatal and enterosystemic circulation of bilirubin), which manifests itself by elevation of bilirubin levels in serum. The basic therapeutic measure in treatment of neonatal hyperbilirubinemia and also of the Crigler-Najjar syndrome of type I is phototherapy. Its principle is photoisomerization and photodegradation of bilirubin to polar fragments, which can be excreted from the organism more easily. An alternative is the exsanguination transfusion. Due to the significance of intestinal metabolism of bilirubin, the possibility of affecting the enterohepatal and enterosystemic circulation of bilirubin seems very promising in the treatment of these hyperbilirubinemic conditions.

## DVOUROZMĚRNÁ ELEKTROFORÉZA V PROTEOMICE: PRINCIPY A APLIKACE

PAVEL BOUCHAL a IGOR KUČERA

*Katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kotlářská 2, 611 37 Brno  
e-mail: bouchal@chemi.muni.cz*

Došlo dne 8.II.2002

Klíčová slova: proteom, proteomika, dvourozměrná elektroforéza, hmotnostní spektrometrie, analýza obrazu, databáze

### Obsah

1. Úvod: genom, genomika, proteom a proteomika
2. Dvourozměrná elektroforéza
  - 2.1. Příprava vzorku pro dvourozměrnou elektroforézu
  - 2.2. První rozměr: isoelektrická fokusace
  - 2.3. Druhý rozměr: elektroforéza v přítomnosti SDS
  - 2.4. Vizualizace: barvení 2-DE gelů
3. Alternativa a jiné varianty dvourozměrné elektroforézy
4. Metody analýzy obrazu a obrazové databáze 2-DE gelů
5. Charakterizace a identifikace proteinů
  - 5.1. Edmanovo odbourávání
  - 5.2. Hmotnostní spektrometrie
  - 5.3. Další metody
  - 5.4. Databáze
6. Aplikace
7. Zdroje proteomických informací
8. Závěr

### 1. Úvod: genom, genomika, proteom a proteomika

Znalost úplné genetické informace daného organismu (genomu), získaná sekvenováním deoxyribonukleové kyseliny (DNA) a určením funkce jednotlivých genů, je nepochybně velkým pokrokem, který umožní hlouběji proniknout do molekulární podstaty funkce živých systémů, což zřejmě povede i k léčbě dosud těžko překonatelných chorob. Genomika, odvětví orientující se na „přečtení“ genomu, je však pouze jedním z prostředků k naplnění těchto cílů. Genetická informace totiž hovoří především o dědičně převzatých schopnostech organismu. Proteiny, které jsou skutečnými činiteli buněčných procesů, však musí být z úrovně DNA nejprve přepsány a přeloženy, přičemž jejich syntéza a degradace (a následně jejich reálná funkce) závisí na mnoha podstatných regulačních faktorech.

Pro soubor všech buněčných proteinů se v roce 1995 ujal pojem proteom jako komplementární soubor proteinů k souboru genů (genomu). Název vznikl z anglické definice „PROTEin complement able to be encoded by a given genOME“ nebo „PROTEin equivalent of a genOME“<sup>1</sup>. Zatímco genom

je pojmem statickým, v podstatě konstantním, proteom je pojmem dynamickým; koncentrace jednotlivých druhů proteinů se (na rozdíl od jejich genů) mění podle aktuálních potřeb organismu.

Studiem proteomu se zabývá nové vědní odvětví na rozhraní chemických a biologických věd, proteomika. Je to komplexní analýza proteinů buňky, tkáně, organely či biologické tekutiny<sup>2</sup>. Jedním z hlavních cílů proteomického výzkumu je získání proteinové mapy – dvourozměrného obrazu znázorňujícího (v metodicky ideálním případě všechny) buněčné proteiny jako skvrny (spoty), jejichž integrální absorbance je mírou jejich koncentrace za daných podmínek. Vytvoření proteinové mapy pomocí dvourozměrné elektroforézy (2-DE), charakterizace jednotlivých proteinů, jejich identifikace v databázích a obrazová analýza 2-DE gelů umožňují provádět experimenty, při nichž je srovnáváno komplexní proteinové složení vzorku za různých podmínek.

Náš článek si neklade za cíl vytvořit vyčerpávající přehled o všech variantách a aplikacích proteomických metod popsaných v literatuře – vzhledem k intenzivnímu rozvoji odvětví tento úkol už ani není splnitelný. Snažili jsme se spíše vytvořit obraz oboru pro čtenáře, kteří s proteomikou dosud nepřišli do kontaktu, případně poskytnout vodítko začínajícím uživatelům proteomických technik. Pro zájemce o hlubší informace jsou citovány specializované přehledné referáty a významné původní práce.

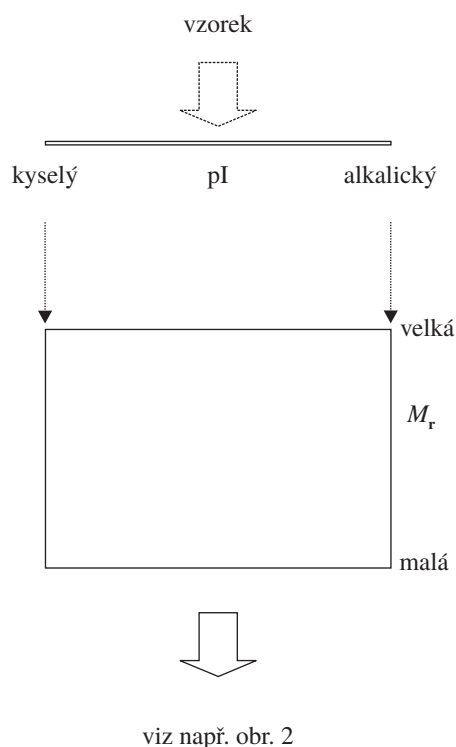
### 2. Dvourozměrná elektroforéza

Klíčovou technikou proteomiky je vysokorozlišovací dvourozměrná elektroforéza (2-DE), jedinečná metoda schopná účinně separovat komplexní směsi bílkovin. Ačkoliv byla poprvé popsána O'Farrellem<sup>3</sup> a Klosem<sup>4</sup> již roku 1975, opravdu širokého rozšíření dosáhla až s rozvojem proteomiky v posledních letech. Jde o instrumentálně náročnou techniku, která i při použití špičkových komerčních aparátů vyžaduje úzkostlivou laboratorní práci a zvláště čisté chemikálie. Celý proces sestává ze speciálního postupu přípravy vzorku, isoelektrické fokusace (IEF), polyakrylamidové elektroforézy v přítomnosti dodecyl-sulfátu sodného (SDS-PAGE) a vizualizace obrazu separovaných bílkovin (proteinové mapy) – viz obr. 1.

#### 2.1. Příprava vzorku pro dvourozměrnou elektroforézu

Tento krok je kvůli svému zásadnímu vlivu na obraz proteinové mapy jednou z nejdůležitějších, ale i nejproblematičtějších částí proteomiky a může se velmi lišit podle typu vzorku. Strategie je dána snahou o solubilizaci (převedení do rozpustného stavu) a disagregaci (omezení vzájemných interakcí) co největšího množství proteinů ve vzorku<sup>5</sup>. Rovněž je nutné minimalizovat případné interference činidel, která zůstala ve vzorku z předchozích kroků (soli, SDS, inhibitory proteas ap.).

Vzorek buněk či tkáně by měl být centrifugačně promyt



viz např. obr. 2

První rozměr: isoelektrická fokusace  
Trubičkový gel (CA-IEF, NEpHGE)  
nebo komerční proužek gelu (IPG-IEF)  
Separace na základě pI

Po skončení isoelektrické fokusace  
a ekvilibraci je IEF gel nanesen na  
vrch deskového SDS-PAGE gelu

Druhý rozměr: SDS-PAGE  
Separace na základě  $M_r$

Vizualizace dvourozměrné separace  
komplexní směsi proteinů  
Fixace proteinů v gelu; vizualizace stříbrem,  
viditelnými nebo fluorescenčními barvivy,  
případně metodami detegujícími  
radioaktivitu

Obr. 1. Schematické znázornění principu dvourozměrné elektroforézy

Tabulka I

Typické kombinace chaotropních činidel a detergentů ve vzorkových pufrch

Č.	Popis účinku vzorkového pufru	Použité chaotropy a detergenty	Lit.
1	Standardní solubilizační podmínky	8 M-močovina, 4% CHAPS	7,8
2	Zlepšené solubilizační podmínky (pro proteiny vyžadující zvýšený účinek chaotropů) <sup>a</sup>	7 M-močovina, 2 M-thiomočovina, 4% CHAPS	10
3	Zlepšené solubilizační podmínky (pro proteiny vyžadující zvýšený účinek detergentů) <sup>a</sup>	5 M-močovina, 2 M-thiomočovina, 2% CHAPS, 2% SB 3-10	10,11
4	T.č. „optimální“ solubilizační podmínky <sup>a</sup>	7 M-močovina, 2 M-thiomočovina, 1% ASB14	12,13

<sup>a</sup> Kombinace s 2 M-thiomočovinou nelze uplatnit u CA-IEF při použití chemicky katalyzované polymerace<sup>14</sup>; zpracováno podle cit.<sup>15</sup>

v pufru s nepříliš velkou iontovou silou a poté fyzikálně nebo chemicky rozbit (rozštěpen). V závislosti na druhu vzorku lze zvolit „french press“, sonikaci, osmotickou či enzymatickou lýzi, mechanickou homogenizaci, případně další metody<sup>6,7</sup>. Současně je nutné enzymově odstranit zbytky DNA a RNA. Při rozbíjení a v následných krocích je třeba eliminovat účinky proteolytických enzymů, jejichž působení může mít značný vliv na obraz proteinové mapy. Nabízí se aplikace inhibitorů proteas (PMSF, Pefabloc<sup>®</sup>, EDTA), volba alkalického prostředí, krátkodobě také práce při zvýšené teplotě. V každém případě se doporučuje proces co možná nejvíce zkrátit. Pro studium pouze určité skupiny proteinů (membránové, ribosomální, cytosolární) se provádí prefrakcionace, obvykle za použití ultracentrifugace. Není-li vzorek dostatečně koncentrován, je možné zahustit jej lyofilizací<sup>8,9</sup> nebo precipitací acetonem či trichloroctovou kyselinou.

Účinkem vzorkového pufru, s nímž je vzorek smíchán před nanesením na IEF gel, by měly být proteiny solubilizovány a desagregovány. Přítomnost vysoké koncentrace chaotropních činidel (močovina, thiomočovina<sup>10</sup>) brání asociaci proteinů vodíkovými můstky. Zwitteriontové či neiontové detergenty (CHAPS, NONIDET NP-40, TRITON X-100, Tween 20, oktylglykosid, SB 3-10, C8Ø, ASB 14) zajišťují rozpustnost hydrofobních částí bílkovin. Redukční činidla, dithiothreitol, dithioerythritol, tributylfosfin, popř. 2-hydroxyethanthiol (2-merkptoethanol), zamezují vzniku disulfidových můstků; amfolyty či TRIS pufrují pH. Typické kombinace detergentů a chaotropů jsou v tabulce I.

Pro proteomiku je dosud ve značné míře nevyřešeným problémem analýza funkčně důležitých membránových proteinů<sup>13,16</sup> a analýza proteinů vyskytujících se v buňce v malém počtu kopií. Kvůli své hydrofobnosti se totiž membránové

proteiny špatně rozpouštějí (solubilizují) a omezeně vstupují do IEF gelu. V důsledku toho jsou pak jejich skvrny na proteinové mapě pod limitem detekce 2-DE často i v případě, že jejich množství v buňce je značné, a proto je třeba volit co neúčinnější solubilizační postupy a detergenty. Nejlepších výsledků bylo zatím dosaženo pomocí amidosulfobetainu 14 (ASB 14), č. 4 v tab. I, cit.<sup>12,17</sup>. Dlouho užívaným postupem je vložení presolubilizačního kroku s použitím aniontového detergentu SDS. Tento detergent se vyznačuje značnou solubilizační silou, ale interferuje při IEF. Tento fakt lze ale obejít zředěním vzorku vzorkovým pufrům obsahujícím neiontový či zwitteriontový detergent<sup>18,19</sup>. Rozpustnost proteinů v průběhu 2-DE analýzy zlepšují také dvoukroková ekvilibrace IEF gelu (viz dále) s použitím jodacetamidu<sup>20</sup>, uplatnění redukčního činidla tributylfosfinu<sup>21</sup> a aplikace vzorku před rehydratací IPG proužku<sup>22</sup>.

Za zmínku stojí rovněž elegantní metoda diferenciální frakcionace<sup>9</sup>. Zde jsou proteiny postupně extrahovány ze vzorku několika činidly se vzrůstající solubilizační silou. Jednotlivé frakce jsou poté podrobeny 2-DE analýze. Proteinová mapa se pak skládá z několika dílčích gelů, obsahujících proteiny s podobnou rozpustností.

## 2.2. První rozměr: isoelektrická fokusace

Solubilizovaný vzorek – bílkoviny ve vzorkovém pufru – je separován isoelektrickou fokusací, během níž se bílkoviny rozdělí v elektrickém poli na základě svých isoelektrických bodů (pI). Jako prvních se pro tento účel začalo užívat trubičkových gelů o průměru 1–2 mm obsahujících amfolyty – látky vytvářející gradient pH (CA-IEF) (cit.<sup>3</sup>). Vzhledem k obtížné manipulaci s trubičkovými gely a často špatné reprodukovatelnosti se však stále více prosazují komerční proužky gelu s imobilizovanými pH gradienty (IPG-IEF) (cit.<sup>23,24</sup>). Jejich dalšími výhodami jsou možnost aplikovat mnohonásobně větší objemy vzorků a větší množství proteinu (až 5 mg oproti 100 µg u CA-IEF), což pomáhá zachytit hydrofobní a slabě zastoupené proteiny a rozšiřuje možnosti následné identifikace. Byly však popsány i ztráty některých hydrofobních proteinů při použití metody IPG-IEF (cit.<sup>10,14</sup>). Na trh byly uvedeny také IPG proužky se sigmoidním pH gradientem<sup>25</sup>, který na 2-D gelu rozšiřuje oblast pI 5–7 s největším množstvím proteinů. Zvláštní přístup vyžaduje analýza bazických proteinů, které vlivem katodického driftu špatně vstupují do CA-IEF gelu. Zpočátku se uplatňovala nerovnovážná isoelektrická fokusace (NEpHGE) (cit.<sup>26</sup>), nyní se část problematických případů daří vyřešit pomocí IPG-IEF s úzkým rozsahem pH v alkalické oblasti<sup>27</sup>.

## 2.3. Druhý rozměr: elektroforéza v přítomnosti SDS

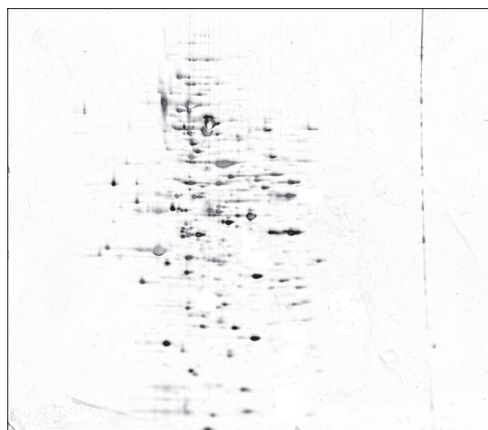
Trubičkový gel (CA-IEF, NEpHGE) nebo komerční proužek (IPG-IEF) obsahující proteiny rozdělené podle isoelektrických bodů (pI) je po ekvilibraci v ekvilibračním pufru umístěn na vrch deskového gelu, případně zalit agarosou s nízkým bodem tuhnutí. Deskový gel obsahuje dodecyl-sulfát sodný, dávající proteinům uniformní specifický náboj (tj. náboj vztažený na jednotku relativní molekulové hmotnosti), takže ty jsou separovány pouze na základě svých velikostí (relativních

molekulových hmotností). Používá se obvykle gelů o koncentraci cca 10–13 % (m/V) akrylamidu. Ve snaze o lepší rozlišení je někdy užíváno gelů s hustotním (porozitním) gradientem (v rozmezí 7–20 % (m/V) akrylamidu) anebo diskontinuálních gelů, složených z koncentrační a separační části. Tyto postupy ale znamenají vnesení dalšího kroku, který může být příčinou zhoršení reprodukovatelnosti celé metody. Doporučuje se proto používat buď gelů bez gradientu nebo počítačově řízeného nalévání gradientových gelů<sup>2</sup>, popřípadě komerčních hotových gelů.

## 2.4. Vizualizace: barvení 2-DE gelů

Po proběhnutí SDS-PAGE je třeba proteiny v gelu zafixovat proti difuzi a vizualizovat (obarvit), přičemž fixační krok již bývá zařazen do barvicího postupu. Nejjednodušší možností vizualizace proteinů na dvourozměrném gelu je použití barviva Coomassie Brilliant Blue, nejlépe v koloidní variantě. Toto barvení je navíc kvantitativní a gel je poté možné použít pro analýzu hmotnostní spektrometrie (MS) (cit.<sup>29</sup>).

10–100× citlivější je barvení stříbrem. Stříbrné ionty se však váží jen na některé aminokyselinové zbytky (Asp, Glu, His, Cys, Met, Lys), metodu proto nelze považovat za plně kvantitativní, přesto jde o způsob nejpoužívanější<sup>30</sup>. Tohoto barvení bylo publikováno mnoho variant s různým složením



Obr. 2. Ukázka záznamu 2-DE analýzy komplexní směsi periplazmatických proteinů bakterie *Paracoccus denitrificans*. Anaerobně rostlá kultura bakterie *Paracoccus denitrificans* byla sklizena do 50 mM-TRIS/HCl pH 7,3. Buňky byly rozbity kombinací enzymatické a osmotické lýze (DNA byla odstraněna pomocí deoxyribonukleasy I), centrifugačně byly odstraněny zbytky celých buněk a ultracentrifugací byla separována membránová frakce. Periplazma (supernatant po ultracentrifugaci) byla zakonzentrována na zahušťovací cele Amicon (membrána YM 3). Vzorek byl presolubilizován převedením do 2% SDS, 0,5 mM-MgCl<sub>2</sub> a 50 mM-TRIS/HCl pH 6,8 sonikací 4 min na ultrazvukové lázni a zahříváním při 100 °C po dobu 3 min; poté byl ochlazen na 4 °C a centrifugován při 33 000 g a 4 °C po dobu 60 min. Konečná solubilizace byla provedena zředěním v poměru 1:2 vzorkovým pufrům o složení 9 M-močovina, 4% (m/V) CHAPS, 65 mM-DTT a 1,6% (m/V) Bio-Lyte 3/10. Dvourozměrná elektroforéza byla provedena na zařízení PROTEAN II xi Cell (Bio-Rad) podle návodu výrobce systému; při isoelektrické fokusaci s nosnými amfolyty bylo dosaženo celkem 9050 V.h; pro SDS-PAGE byl použit 12% homogenní gel. Gel byl barven stříbrem podle Rabillouda<sup>28</sup>. Pozadí bylo odečteno pomocí software PDQUEST, cit.<sup>57</sup>

činidel a s různou délkou jednotlivých kroků; v zásadě je lze rozdělit na tzv. kyselé metody na bázi vodného roztoku  $\text{AgNO}_3$  a tzv. alkalické metody na bázi diamminkomplexů  $\text{Ag}^+$  v alkalickém prostředí. Při barvení stříbrem je vhodné uplatnit některý z možných senzitivizačních kroků s cílem zlepšit tvorbu tzv. latentního obrazu<sup>31</sup>. Byly vyvinuty rovněž modifikace kompatibilní s další MS charakterizací<sup>32,33</sup>. Přehled kompatibility barvení s MS analýzou je uveden v cit.<sup>34</sup>

Při funkčních studiích, kdy má být zjištěna indukce proteinů v určitém definovaném časovém okamžiku (např. po předávkou určitého faktoru či při změně podmínek), se někdy používá inkorporace radioaktivně značeného methioninu  $\text{L-}[^{35}\text{S}]\text{Met}$  do polypeptidového řetězce syntetizovaného za sledovaných podmínek. Buňky jsou poté podrobeny 2-DE analýze, přičemž výhradně indukované proteiny jsou detegovány na rentgenovém filmu autoradiografií<sup>35</sup> či s použitím fosfoimageru.

V poslední době se vkládají naděje do nových fluorescenčních metod barvení typu SYPRO (cit.<sup>36,37</sup>) (SYPRO Ruby, Orange). Tyto metody jsou podobně jednoduché a kvantitativní jako barvení Coomassie, avšak citlivostí srovnatelné s barvením stříbrem a navíc kompatibilní s MS charakterizací. Vzhledem k vysoké ceně však doposud nedoznaly masového rozšíření. Slibná se zdá být také metodika tzv. 2-D Fluorescence difference gel electrophoresis (2-D DIGE) (cit.<sup>38</sup>). Zde probíhá celá 2-D analýza se směsí dvou fluorescenčně předznačených vzorků, jejichž proteinové složení se má srovnat. Po skončení celého procesu jsou srovnány fluorescenční obrazce 2-D gelu při různých vlnových délkách. Díky tomuto postupu je omezen vliv odchylek 2-DE analýzy, protože separace obou vzorků probíhá za identických podmínek.

### 3. Alternativy a jiné varianty dvourozměrné elektroforézy

Nedostatky dvourozměrné elektroforézy, mezi něž patří vedle problémů s analýzou hydrofobních proteinů také časová a manuální náročnost, vedou k hledání alternativních metod. Zkrácení proteomického postupu bylo dosaženo analýzou proteinů přímo na IPG proužcích pomocí MALDI-TOF MS a tvorbou „virtuálních“ 2-D gelů<sup>39</sup>. Zcela odlišný alternativní přístup představuje komplexní analýza proteinů založená na skupině nových chemických reagentů ICAT (isotope-coded affinity tags), afinitní chromatografii a tandemové hmotnostní spektrometrii<sup>40</sup>. Přesto však 2-DE zůstává nejrozšířenější a nejvhodnější metodou ke svému účelu<sup>41</sup>.

Vedle dvourozměrné elektroforézy definované v tomto článku jako spojení denaturační IEF a SDS-PAGE bývají někdy užívány i jiné kombinace základních elektroforetických metod, například kombinace nativní gradientové „modré“ elektroforézy s denaturační SDS-PAGE (cit.<sup>43</sup>) nebo nativní IEF s denaturační SDS-PAGE (cit.<sup>43</sup>).

### 4. Metody analýzy obrazu a obrazové databáze 2-DE gelů

Jak bylo řečeno již v úvodu, jednou z hlavních náplní proteomiky je po metodické stránce tvorba proteinových map, vycházející ze srovnávání obrazů 2-DE gelů. V první fázi je

obraz nasnímán, přičemž se využívá CCD (charge coupled device) kamer, densitometrů a skenerů pro snímání obrazu ve viditelném světle, fluoroimagerů pro detekci fluorescence a fosfoimagerů citlivých na radioaktivní záření<sup>2,44</sup>. Speciální software umožňuje detegovat skvrny na 2-DE gelu, odečítat pozadí, navzájem přiřazovat skvrny na různých 2-DE gelech (matching), vzájemně standardizovat a kvantitativně vyhodnocovat gely, čímž jsou částečně eliminovány nepřesnosti vzniklé během komplikované 2-DE analýzy a při barvení gelů. Dále lze konstruovat proteinové mapy a obrazové databáze. Software bylo během let vyvinuto více typů. K nejpoužívanějším dnes patří PC programy s unixovým jádrem PDQUEST a MELANIE II, III a vzájemně blízké produkty založené na PC platformě AIDA, Phoretix 2-D a ImageMaster. Praktické rozdíly mezi jednotlivými druhy komerčního software lze najít zejména v počtu současně srovnávaných gelů a ve způsobu přiřazování skvrn (matchingu).

Jelikož integrální absorpenci každé skvrny lze považovat za kvantitativní ukazatel exprese proteinu, je možné pomocí 2-D software srovnávat parametry skvrn na různých 2-DE gelech a vyvozovat závěry o expresi proteinů za různých podmínek. Získané gely mohou být ukládány do obrazových databází podle typu vzorku, přičemž mnoho databází je dostupných na internetu (pro přehled viz cit.<sup>45</sup>). Některé typy komerčních programů pro analýzu 2-DE gelů umějí s těmito databázemi komunikovat a vytvářet vlastní internetové stránky.

## 5. Charakterizace a identifikace proteinů

Vyhodnocovací software umožňuje přiřadit každé skvrně na 2-DE gelu určitou hodnotu isoelektrického bodu a relativní molekulové hmotnosti na základě kalibrace. Získané hodnoty jsou však pouze přibližné a k jednoznačné charakterizaci bílkoviny v žádném případě nepostačují. Využívá se proto určování částečné primární struktury bílkoviny dále uvedenými metodami:

### 5.1. Edmanovo odbourávání

Zjištění N-terminální sekvence aminokyselin analyzovaného proteinu postupem zahrnujícím Edmanovo odbourávání<sup>46</sup> je metoda, která před více než 30 lety umožnila vznik strukturální chemie proteinů. Bílkoviny jsou nejprve pomocí blotingu<sup>47,48</sup> přeneseny z gelu na blotovací membránu z poly(vinylidendifluoridu) (PVDF) nebo skelných vláken. Membrána je poté obarvena a je z ní vyříznuto místo se skvrnou analyzovaného proteinu. Tento výřez je podroben Edmanovu odbourávání, kdy je postupným odštěpováním aminokyselin z polypeptidového řetězce a následnou HPLC analýzou vznikajících PTH (fenylothiohydantoinových) derivátů aminokyselin stanovena N-terminální sekvence proteinu. V souvislosti s uplatněním Edmanova odbourávání v rámci proteomických metod je třeba vzít v úvahu následující faktory: *i*) doba analýzy je cca 40 minut na 1 aminokyselinový zbytek, *ii*) cena se pohybuje mezi 3–4 USD na aminokyselinu a *iii*) analýza může být komplikována modifikacemi (blokováním) N-konce proteinu (např. acetylací) (cit.<sup>2</sup>). Tyto faktory odsouvají Edmanovo odbourávání z popředí proteomického zájmu, neboť úspěšná charakterizace desítek či stovek proteinů tímto způsobem není příliš reálná.



Tabulka II  
Strukturální databáze použitelné k identifikaci proteinů v 2-D gelech

Název databáze <sup>a</sup>	URL	Popis databáze
Swiss-Prot	<a href="http://www.expasy.ch">http://www.expasy.ch</a>	proteinová databáze
TrEMBL	<a href="http://www.expasy.ch">http://www.expasy.ch</a>	proteinová databáze
PIR	<a href="http://pir.georgetown.edu/pirwww/pirhome.html">http://pir.georgetown.edu/pirwww/pirhome.html</a>	proteinová databáze
OWL	<a href="http://www.leeds.ac.uk/bmb/owl/owl.html">http://www.leeds.ac.uk/bmb/owl/owl.html</a>	proteinová databáze
GDB	<a href="http://gdb.org">http://gdb.org</a>	genomová databáze
Washington University	<a href="http://genome.wustl.edu/est/esthmpg.html">http://genome.wustl.edu/est/esthmpg.html</a>	„sequence tags“ databáze
PDB	<a href="http://www.rcsb.org/pdb">http://www.rcsb.org/pdb</a>	3-D struktury proteinů
DDBJ	<a href="http://www.ddbj.nig.ac.jp">http://www.ddbj.nig.ac.jp</a>	nukleotidová databáze
EMBL	<a href="http://www.embl-heidelberg.de/Services/index.html">http://www.embl-heidelberg.de/Services/index.html</a>	nukleotidová databáze
NCBI	<a href="http://ncbi.nlm.nih.gov">http://ncbi.nlm.nih.gov</a>	nukleotidová databáze
EcoCyc	<a href="http://ecocyc.pangeasystems.com/ecocyc/ecocyc.html">http://ecocyc.pangeasystems.com/ecocyc/ecocyc.html</a>	geny a metabolismus <i>Escherichia coli</i>

<sup>a</sup> DDBJ – DNA Data Bank of Japan, EMBL – European Molecular-Biology Laboratory, GDB – Genome Database, NCBI – National Center for Biotechnology Information, PDB – Protein Data Bank, URL – universal-resource locator; zpracováno podle cit.<sup>45</sup>

## 5.2. Hmotnostní spektrometrie

Pro analýzu bílkovin a peptidů se nejčastěji používají dva typy hmotnostní spektrometrie (MS): *i*) „Matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight“ MS (MALDI-TOF MS) (cit.<sup>50</sup>) a *ii*) „Electrospray-ionisation“ MS (ESI-MS) (cit.<sup>51</sup>). Kromě získání relativních molekulových hmotností peptidů lze pomocí tandemové hmotnostní spektrometrie (MS/MS) určit částečnou, případně i úplnou primární strukturu peptidů a proteinů. Pro bližší přehled principů viz cit.<sup>52</sup>. Proteiny mohou být hmotnostní spektrometrií charakterizovány v zásadě dvěma metodickými přístupy, a to tzv. „peptide mass fingerprinting“ (PMF) a „peptide fragment sequencing“ (PFS).

### Peptide mass fingerprinting

Principem je štěpení proteinů separovaných 2-D elektroforézou obvykle přímo v gelu pomocí enzymu nebo látky, která definovaně štěpí polypeptidový řetězec. Nejpoužívanější je přítom trypsin, štěpící amidovou (peptidovou) vazbu na C-straně argininu a lysinu. Směs peptidů je poté analyzována hmotnostní spektrometrií, a to buď užitím MALDI-TOF MS nebo ESI-MS. Přesnost obou metod je lepší než 0,1 jednotky relativní molekulové hmotnosti. Výstupem je soubor relativních molekulových hmotností peptidů. Tento soubor je pak porovnán se soubory molekulových hmotností peptidů, vytvořenými počítačem z proteinů v proteinové databázi. Užívá se přitom např. programů MS-FIT (<http://www.prospector.ucsf.edu>) nebo MASCOT (<http://www.matrixscience.com>).

### Peptide fragment sequencing

Při nedostatku informací získaných z PMF je možno protein identifikovat pomocí fragmentace jednotlivých peptidů. Peptidy mohou být fragmentovány přímo ve hmotnostním spektrometru, a to *i*) buď pomocí „collision-induced dissociation“ (CID) v případě ESI-MS, nebo *ii*) pomocí MALDI-TOF pracujícím v režimu MALDI-PSD (post-source decay). Ve srovnání s MALDI-PSD fragmentací, která může být neúplná, je

metoda CID považována za stabilní a robustní metodu. Krátké sekvence peptidů, nazývané „peptide sequence tags“, společně s relativní hmotností peptidu a vzdáleností konců sekvence k N- a C-konci peptidu v jednotkách relativní molekulové hmotnosti, jsou obvykle dostatečnou informací k identifikaci proteinu.

## 5.3. Další metody

Uplatnění při identifikaci proteinů nalézají také imunochemické metody, konkrétně Western-blotting: proteiny z 2-DE gelu jsou přeneseny na blotovací membránu (podobně jako u Edmanova odbourávání). Ta je inkubována s protilátkou A proti hledanému proteinu. Následně proběhne inkubace s protilátkou B proti protilátce A. Jelikož protilátka B má navázanu chromogenní značku, místo s hledaným proteinem je na membráně barevně označeno.

Pomocné uplatnění při identifikaci proteinů někdy nachází také analýza aminokyselinového složení. Požadovaný protein je z 2-DE gelu blotován na membránu, odkud je vyříznut a hydrolyzován (1 h při 155 °C). Uvolněné aminokyseliny jsou derivatizovány a podrobeny analýze HPLC. Na základě poměrného zastoupení jednotlivých aminokyselin zjištěného z chromatogramu je protein srovnáván s proteiny v databázi, například pomocí programů AACompIdent, ASA, FINDER, AAC-PI, PROP-SEARCH aj.<sup>2</sup>

## 5.4. Databáze

Částečná informace o primární struktuře proteinu, získaná s pomocí Edmanova odbourávání nebo hmotnostní spektrometrie, je využita k identifikaci proteinu v databázi. Vedle již zmíněných obrazových databází 2-DE gelů, které jsou vytvářeny vždy pro určitý druh vzorku, existují proteinové databáze (obsahující sekvence všech popsanych proteinů) a databáze se sekvencí DNA. Oba typy strukturálních databází jsou obvykle propojené a využitelné pro identifikaci proteinů – viz tabulka II. Při určení míry homologie se uplatňují algoritmy BLAST a FASTA.

## 6. Aplikace

Za hlavní přínos proteomických metod lze považovat možnost srovnání komplexního proteinového složení vzorků vzniklých za různých podmínek. V úvahu připadá sledování rozdílů způsobených změnami teploty, pH prostředí, omezení substrátem, anaerobiosou, genovými manipulacemi, vývoje- vým stavem či chemickými faktory, jako jsou hormony, anti- biotika, cytostatika a další. Kromě sestavování proteinových map a srovnávacích studií jsou také prováděna srovnání prote- inového složení vzorků různých, zejména bakteriálních dru- hů. Hmotnostní spektrometrie umožňuje sledovat posttransla- lační modifikace proteinů.

Je třeba si uvědomit, že identifikace proteinů vychází ze zjištění homologie identifikovaného proteinu s proteinem v proteinové databázi nebo s přeloženou sekvencí genomu. Znalost genomu daného organismu je tedy jedinou jistou pomůckou při identifikaci proteinu v případě, že jeho vlastní struktura nebyla dosud popsána. Ne náhodou je tedy mnoho proteomických studií zaměřeno na mikroorganismy<sup>53,54</sup>; z ge- nomů, které byly kompletně sekvenovány, jsou totiž cca 3/4 bakteriálních (aktuální přehled viz <http://www.tigr.org/tdb/ mdb/mdbcomplete.html> nebo <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ Entrez/Genome/org.html>). Velmi přínosný se zdá být proteo- mický výzkum v medicíně, a to jednak ve farmakologii při studiu účinku léků na proteosyntézu, jednak v medicínském výzkumu ke studiu komplexních změn proteosyntézy u růz- ných onemocnění, například u onkologií<sup>55,56</sup>. Rozvíjí se také studium rostlinných a živočišných proteomů.

## 7. Zdroje proteomických informací

Zájemcům o proteomickou problematiku lze doporučit odborná periodika – zvláště specializovaná čísla časopisu Electrophoresis věnující se střídavě metodickým otázkám, bakteriálním proteomům, bioinformatice, farmaceutické prote- omice, aj. Od roku 2001 vychází čistě proteomické periodik- um, časopis Proteomics. Komplexní informace je možné nalézt také na serveru <http://www.expasy.org>, provozovaném renomovanou ženevskou skupinou prof. Denise F. Hochstras- sera. Proteomice jsou věnovány mezinárodní konference za účasti světových špiček oboru, v současné době například Proteomic Forum (Mnichov 2001, 2003), kongresy švýcarské proteomické společnosti (Ženeva 2001, Lausanne 2002) nebo prestižní setkání konaná jednou za dva roky v italské Sieně (Siena 2002, viz <http://www.unisi.it/eventi/proteome/>).

## 8. Závěr

Proteomika se zdá být velmi perspektivním nástrojem výzkumu v „postgenomovém“ období věd označovaných jako vědy o životě (Life Science). V posledních několika letech byly učiněny velké pokroky v oblasti analýzy obrazu a iden- tifikace proteinů hmotnostní spektrometrií, umožňující pod- statně zrychlení, zpřesnění a automatizaci procesu identifikace proteinů. Velkou výhodou je také případná znalost genomu studovaného organismu. Limitující fází proteomiky je tak i přes značnou komercializaci metoda dvourozměrné elektro- forézy. Otazník visí zejména nad její vhodností k analýze

hydrofobních proteinů a proteinů vyskytujících se v malém počtu kopií. Zdá se proto, že do okamžiku, kdy proteinová mapa bude znamenat pohled na skutečně všechny buněčné proteiny, zbývá udělat ještě mnoho usilovné práce. Přes tyto skutečnosti proteomika nepochybně velmi přispěje k odhalení nových souvislostí mezi koncentrací a fyziologickou funkcí proteinů.

### Seznam zkratk a symbolů

2-D	two-dimensional – dvourozměrný
2-DE	two-dimensional electrophoresis – dvourozměrná elektroforéza
ASB 14	3-[dimethyl(3-tetradekanamidopropyl)amonio]-propan-1-sulfonát
C8Ø	3-{dimethyl[3-(4-oktylbenzamido)propyl]amo- nio}propan-1-sulfonát
CA	carrier ampholyte – nosný amfolyt
CCD	charge coupled device (český název se dosud nevíl)
CHAPS	3-[(3-cholamidopropyl)dimethylamonio]-pro- pan-1-sulfonát
CID	collision induced dissociation (český název se dosud nevíl)
DIGE	difference gel electrophoresis – diferenční ge- lová elektroforéza
DNA	deoxyribonucleic acid – deoxyribonukleová kyselina
DTT	dithiothreitol
EDTA	ethylenediamintetraoctová kyselina
ESI-MS	electrospray ionization mass spectrometry – hmotnostní spektrometrie s ionizační elektro- sprayem
HPLC	high performance liquid chromatography – vy- sokoúčinná kapalinná chromatografie
ICAT	isotope-coded affinity tags
IEF	isoelectric focusing – isoelektrická fokusace
IPG	immobilised pH gradient – imobilizovaný pH gradient
MALDI-TOF	matrix-assisted laser desorption ionization ti- me-of-flight (český název se dosud nevíl)
$M_r$	relativní molekulová hmotnost
MS	mass spectrometry – hmotnostní spektrometrie
NEpHGE	non-equilibrium pH gradient electrophoresis – nerovnovážná elektroforéza při gradientu pH
PC	personal computer – osobní počítač
PFS	peptide fragment sequencing – sekvenování peptidových fragmentů
pI	isoelectric point – isoelektrický bod
PMF	peptide mass fingerprinting (český název se dosud nevíl)
PMSF	fenylmethansulfonylfluorid
PVDF	poly(vinylidendifluorid)
RNA	ribonucleic acid – ribonukleová kyselina
SB 3-10	3-(decyldimethylamonio)propan-1-sulfonát
SDS	dodecyl-sulfát sodný
SDS-PAGE	sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel elec- trophoresis – polyakrylamidová gelová elek- troforéza v přítomnosti dodecyl-sulfátu sodného
TBP	tributylfosfin
TRIS	tris(hydroxymethyl)aminomethan

*Autoři děkují RNDr. Zbyňku Zdráhalovi, DrSc., za informace a diskuzi ohledně metod hmotnostní spektrometrie. Práce vznikla s podporou grantových projektů Fondu rozvoje vysokých škol (569/2001) a Grantové agentury České republiky (203/01/1589).*

## LITERATURA

1. Wasinger V. C., Cordwell S. J., Cerpa-Poljak A., Yan J. X., Gooley A. A., Wilkins M. R., Duncan M. W., Harris R., Williams K. L., Humphery-Smith I.: *Electrophoresis* 16, 1090 (1995).
2. Humphery-Smith I., Cordwell S. J., Blackstock W. P.: *Electrophoresis* 18, 1217 (1997).
3. O'Farrell P. H.: *J. Biol. Chem.* 250, 4007 (1975).
4. Klose J.: *Humangenetik* 26, 231 (1975).
5. Rabilloud T.: *Electrophoresis* 17, 813 (1996).
6. Link A. J. (ed.): *2-D Proteome Analysis Protocols. Series: Methods in Molecular Biology*, sv.112. Humana Press, Totowa 1999.
7. Berkelman T., Stenstedt T.: *2-D Electrophoresis Using Immobilized pH Gradients. Principles & Methods*. Amersham Pharmacia Biotech Inc., Uppsala 1998.
8. Rabilloud T. (ed.): *Proteome Research: Two-Dimensional Gel Electrophoresis and Identification Methods*. Springer, Berlin 2000.
9. Molloy M. P., Herbert B. R., Walsh B. J., Tyler M. I., Traini M., Sanchez J. C., Hochstrasser D. F., Williams K. L., Gooley A. A.: *Electrophoresis* 19, 837 (1998).
10. Rabilloud T., Adessi C., Giraudel A., Lunardi J.: *Electrophoresis* 18, 307 (1997).
11. Garfin D., Heerdt L. (ed.): *2-D Electrophoresis for Proteomics. A Methods and Product Manual*. Bio-Rad, Hercules 2001.
12. Chevallet M., Santoni V., Poinas A., Rouquié D., Fuchs A., Kieffer S., Rossignol M., Lunardi J., Garin J., Rabilloud T.: *Electrophoresis* 19, 1901 (1998).
13. Molloy M. P.: *Anal. Biochem.* 280, 1 (2000).
14. Rabilloud T.: *Electrophoresis* 19, 758 (1998).
15. Herbert B.: *Electrophoresis* 20, 660 (1999).
16. Santoni V., Molloy M., Rabilloud T.: *Electrophoresis* 21, 1054 (2000).
17. Molloy M. P., Herbert B. R., Slade M. B., Rabilloud T., Nouwens A. S., Williams K. L., Gooley A. A.: *Eur. J. Biochem.* 267, 2871 (2000).
18. Ames G. F. L., Nikaído K.: *Biochemistry* 15, 616 (1976).
19. Harder A., Wildgruber R., Nawrocki A., Fey S. J., Larsen P. M., Görg A.: *Electrophoresis* 20, 826 (1999).
20. Görg A., Postel W., Weser J., Gunther S., Strahler J. R., Hanash S. M., Somerlot L.: *Electrophoresis* 8, 122 (1987).
21. Herbert B. R., Molloy M. P., Gooley A. A., Walsh B. J., Bryson W. G., Williams K. L.: *Electrophoresis* 19, 845 (1998).
22. Rabilloud T., Valette C., Lawrence J. J.: *Electrophoresis* 15, 1552 (1994).
23. Bjellqvist B., Ek K., Righetti P. G., Gianazza E., Görg A., Westermeier R., Postel W.: *J. Biochem. Biophys. Methods* 6, 317 (1982).
24. Görg A., Obermaier C., Boguth G., Scheibe B., Wildgruber R., Weiss W.: *Electrophoresis* 21, 1037 (2000).
25. Bjellqvist B., Sanchez J. C., Pasquali C., Ravier F., Paquet N., Frutiger S., Hughes G. J., Hochstrasser D.: *Electrophoresis* 14, 1375 (1993).
26. O'Farrell P. Z., Goodman H. M., O'Farrell P. H.: *Cell* 12, 1133 (1977).
27. Görg A., Obermaier C., Boguth G., Weiss W.: *Electrophoresis* 20, 712 (1999).
28. Rabilloud T., Brodard V., Peltre G., Righetti P.G., Ettori C.: *Electrophoresis* 13, 264 (1992).
29. Matsui N. M., Smith-Beckerman D. M., Epstein L. B., v knize: *2-D Proteome Analysis Protocols, Series: Methods in Molecular Biology* (Link A. J., ed.), sv. 112, kap. 34. Humana Press, Totowa 1999.
30. Rabilloud T., Vuillrd L., Gilly C., Lawrence J. J.: *Cell. Mol. Biol.* 40, 57 (1994).
31. Rabilloud T.: *Electrophoresis* 11, 785 (1990).
32. Shevchenko A., Wilm M., Vorm O., Mann M.: *Anal. Chem.* 68, 850 (1996).
33. Yan J. X., Wait R., Berkelman T., Harry R. A., Westbrook J. A., Wheeler C. H., Dunn M. J.: *Electrophoresis* 21, 3666 (2000).
34. Lauber W. M., Carroll J. A., Dufield D.R., Kiesel J. R., Radabaugh M. R., Malone J. P.: *Electrophoresis* 22, 906 (2001).
35. Link A. J., v knize: *2-D Proteome Analysis Protocols, Series: Methods in Molecular Biology* (Link A. J., ed.), sv. 112, kap. 31. Humana Press, Totowa 1999.
36. Berggren K., Steiberg T., Lauber W., Carroll J., Lopez M., Chernokalskaya E., Zieske L., Diwu Z., Haugland R., Patton W.: *Anal. Biochem.* 276, 129 (1999).
37. Patton W. F.: *Electrophoresis* 21, 1123 (2000).
38. Unlu M., Morgan M. E., Minden J. S.: *Electrophoresis* 18, 2071 (1997).
39. Wakler A. K., Rymar G., Andrews P. C.: *Electrophoresis* 22, 933 (2001).
40. Gygi S. P., Rist B., Gerber S. A., Turecek F., Gelb M. H., Aebershold R.: *Nat. Biotechnol.* 17, 994 (1999).
41. Rabilloud T.: *Proteomics* 2, 3 (2002).
42. Schägger H., von Jagow G.: *Anal. Biochem.* 199, 223 (1991).
43. Bass W. T., Bricker T. M.: *Anal. Biochem.* 171, 330 (1988).
44. Miura K.: *Electrophoresis* 22, 801 (2001).
45. Langen H., Berndt P., v knize: *Proteome Research: Mass Spectrometry* (James P., ed.). Springer, Berlin 2001.
46. Edman P.: *Acta Chem. Scand.* 4, 283 (1950).
47. Dunn M. J., v knize: *2-D Proteome Analysis Protocols, Series: Methods in Molecular Biology* (Link A. J., ed.), sv. 112, kap. 35. Humana Press, Totowa, N.J., 1999.
48. Glatz Z.: *Chem. Listy* 89, 437 (1995).
49. Kamo M., Tsugita A., v knize: *2-D Proteome Analysis Protocols, Series: Methods in Molecular Biology* (Link A. J., ed.), sv. 112, kap. 48. Humana Press, Totowa, N.J., 1999.
50. Karas M., Hillenkamp F.: *Anal. Chem.* 60, 2299 (1988).
51. Fenn J. B., Mann M., Meng C. K., Wong S. F., Whitehouse C. M.: *Science (Washington, D.C.)* 246, 64 (1989).
52. James P. (ed.): *Proteome Research: Mass Spectrometry*. Springer, Berlin 2001.
53. O'Connor C. C., Adams P., Alefounder P., Farris M., Kinsella N., Li Y., Payot S., Skipp P.: *Electrophoresis* 21, 1178 (2000).
54. Van Bogelen R. A., Schiller E. E., Thomas J. D., Neidhardt F. C.: *Electrophoresis* 20, 2149 (1999).

55. Alaiya A. A., Franzén B., Auer G., Linder S.: *Electrophoresis* 21, 1210 (2000).
56. Myers T. G., Anderson N. L., Waltham M., Li G., Buolamwini J. K., Scudiero D. A., Paull K. D., Sausville E. A., Weinstein J. N.: *Electrophoresis* 18, 647 (1997).
57. Bouchal P.: nepublikované výsledky.

**P. Bouchal and I. Kučera** (*Department of Biochemistry, Faculty of Science, Masaryk University, Brno*): **Two-Dimensional Electrophoresis in Proteomics: Principles and Applications**

Proteomics, a new branch of science related to genomics, involves complex analysis of proteins of cells, tissues or bio-

logical fluids. Proteomics is today based on two-dimensional electrophoresis, the crucial technology in making protein maps. It consists of a special procedure for preparation of a sample, isoelectric focustion, sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis and gel visualization. Two-dimensional separations of complex protein mixtures in gels are compared, evaluated by image analysis and protein maps are constructed. Individual proteins on the maps can be characterized by various methods, most frequently by mass spectrometry, and identified in databases using the information on their structure. Proteomic methods find useful applications in comparing complex protein composition in biology, especially in microbiology and medicine, where they can contribute to revealing new relations between concentrations of proteins and their physiological functions.

Česká sklářská společnost  
Ústav skla a keramiky VŠCHT Praha  
Ústav chemie pevných látek VŠCHT Praha

Silikátová společnost ČR  
Ústav anorganické chemie VŠCHT Praha  
Ústav anorganické chemie AV ČR

## ANORGANICKÉ NEKOVOVÉ MATERIÁLY

### PROCESY – TECHNOLOGIE – VLASTNOSTI

Odborný seminář o výsledcích dizertačních prací v postgraduálním studiu se koná

**5. února 2003 v 9 hodin**

v budově „A“ VŠCHT Praha, posluchárna A 02, Technická 5, Praha 6

Na programu semináře jsou přednášky doktorandů ústavů, spolupořadatelů semináře. Po každé přednášce bude v rámci vymezeného času následovat krátká diskuse. K účasti na semináři jsou zváni všichni zájemci o nové poznatky z výzkumu chemie a technologie anorganických nekovových materiálů.

## LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

### KALIBRÁCIA ODOZVY PLAMEŇOVO IONIZAČNÉHO DETEKTORA PRI ANALÝZE VYŠŠIE VRIACICH ROPNÝCH DESTILAČNÝCH FRAKCIÍ KLASICKOU A RÝCHLOU KAPILÁRNOU PLYNOVOU CHROMATOGRAFIOU

JÁN KRUPČÍK, PETER OSWALD, EVA BENICKÁ  
a JANA MYDLOVÁ

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

Došlo dňa 18.IV.2002

Kľúčové slová: vyššie vriace ropné frakcie, kapilárna plynová chromatografia, kalibrácia GC-FID

### Úvod

Ropa, ako jeden z najpoužívanejších zdrojov energie a tiež nenahradiateľná surovina pre chemický priemysel, predstavuje spolu s jej produktmi aj jeden z najrozšírenejších zdrojov znečistenia vody a pôdy. Do pôdy sa ropné látky môžu dostať z poškodených zásobníkov a ropovodov, častejšie však nevhodnou manipuláciou v rafinériách, petrochemických závodoch, pri transporte ropy a ropných destilačných frakcií, únikom v okolí benzínových čerpadiel a z motorových vozidiel. Z pôdy sa vymývajú do povrchových a podzemných vôd. V životnom prostredí sa najčastejšie stanovuje znečistenie ropnými destilačnými frakciami, medzi ktoré patria benzíny, motorová nafta, motorový olej, palivá, oleje a mazadlá.

Na analýzu znečistenia životného prostredia ropnými destilačnými frakciami sa najčastejšie používa kapilárna plynová chromatografia (CGC) s plameňovo ionizačným detektorom (FID) a infračervená spektrometria (IRS). CGC je však na stanovenie ropných látok vo vode a pôde výhodnejšia, pretože popri kvantitatívnej analýze umožňuje charakterizovať ropnú destilačnú frakciu a na jej základe určiť zdroj znečistenia<sup>1,2</sup>. Výhodnou metódou je kombinácia kapilárnej plynovej chromatografie s hmotnostnou spektrometriou (CGC-MS), ktorá navyše umožňuje identifikovať a stanoviť vo vzorkách prítomnosť vybraných toxických zložiek (napríklad polykondenzovaných aromatických uhľovodíkov)<sup>2,3</sup>. Zriedkavejšie sa na analýzu ropných uhľovodíkov vo vode a pôde využíva kombinácia plynovej chromatografie s infračervenou spektrometriou (GC-FTIR) a atómovou emisnou spektrometriou (GC-AES).

Analytický postup na stanovenie ropných látok vo vode a pôde najčastejšie zahŕňa: odber vzoriek, extrakciu ropných látok z vody, resp. pôdy plynom, nadkritickou parou, alebo organickým rozpúšťadlom a analýzu uhľovodíkov v ekstrak-

toch plynovou chromatografiou alebo infračervenou spektrometriou<sup>1,2</sup>.

Ropné destilačné frakcie sa najčastejšie separujú klasickou kapilárnou chromatografiou. Na separáciu vyššie vriacich ropných frakcií možno využiť rýchlu plynovú chromatografiu. Separáciu možno urýchliť zmenou parametrov kolóny, medzi ktoré patrí dĺžka, priemer a hrúbka filmu stacionárnej fázy. Najjednoduchším spôsobom výrazného urýchlenia separácie je skrátenie kolóny. Tento spôsob však možno použiť len vtedy, kedy možno znížiť separačnú účinnosť kolóny, pretože počet teoretických priehradiek je úmerný dĺžke kolóny. Separáciu možno efektívnejšie urýchliť zmenšením vnútorného priemeru kolóny, čím sa súčasne zvýši aj separačná účinnosť kolóny. Zmenšením vnútorného priemeru kolóny sa však zmenší zaťažiteľnosť kolóny vzorkou (kapacita kolóny). Preto sa v praxi na rýchlu separáciu používajú kolóny s vnútorným priemerom do 0,10 mm. Tenšie kolóny už majú veľmi malú kapacitu, a preto sa používajú len zriedka.

Separáciu ďalej možno urýchliť zvýšením rýchlosti toku nosného plynu kolónou. Na charakterizáciu rýchlosti separácie sa využívajú rôzne kritériá. Jedným z často používaných kritérií je zrýchľovací faktor (SEF), ktorý možno vypočítať zo vzťahu:

$$SEF = \frac{L_A / \bar{u}_A}{L_B / \bar{u}_B} = \frac{t_{M,A}}{t_{M,B}}$$

v ktorom sa rýchla separácia v kolóne B porovnáva so separáciou v klasickej kapilárnej kolóne A (dĺžka 30 m, vnútorný priemer 0,25 až 0,32 mm), ktorou prúdi hélium priemernou rýchlosťou toku  $\bar{u}_A = 34 \text{ cm.s}^{-1}$ ) (cit.<sup>4</sup>).

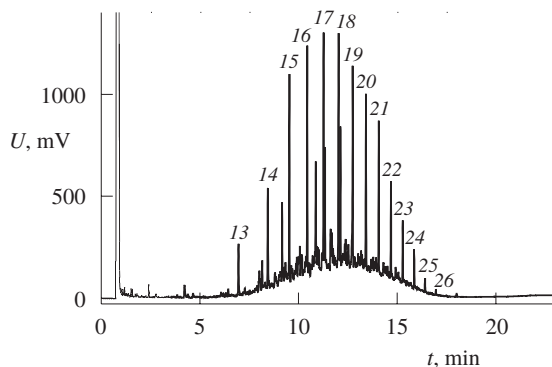
Na stanovenie celkového znečistenia vody, resp. pôdy ropnými destilačnými frakciami metódou GC-FID sa najčastejšie využíva metóda kalibračnej krivky, ktorá sa spravidla zostrojí z údajov zistených separáciou referenčných ropných destilačných frakcií. Výber vhodného štandardu však do značnej miery komplikuje fakt, že zloženie ropných frakcií v životnom prostredí sa účinkom biodegradácie mení s časom. V predchádzajúcej práci sme uviedli príklad, v ktorom odozva FID značne závisela od skupinového zloženia ropných frakcií<sup>5</sup>. V tejto práci sa vyššie vriace ropné destilačné frakcie analyzovali klasickou kapilárnou plynovou chromatografiou. Výsledky sa ďalej porovnali so separáciou vo veľmi krátkych klasických kapilárnych kolónach za podmienok rýchlej chromatografie. Na kalibráciu metódy GC-FID sa využila analytická krivka a jej kombinácia s metódou zmesného vnútorného štandardu.

### Experimentálna časť

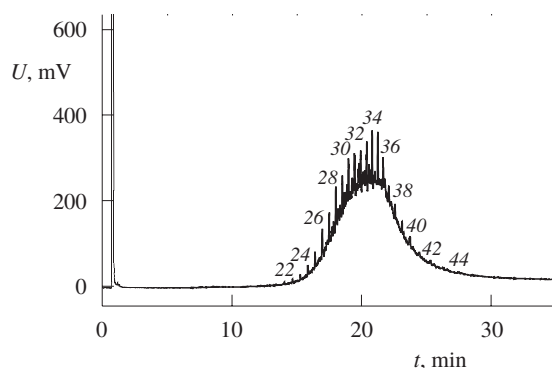
#### Prístrojová technika

Na separáciu ropných destilačných frakcií v extraktoch a modelových vzorkách sa využil plynový chromatograf GC-

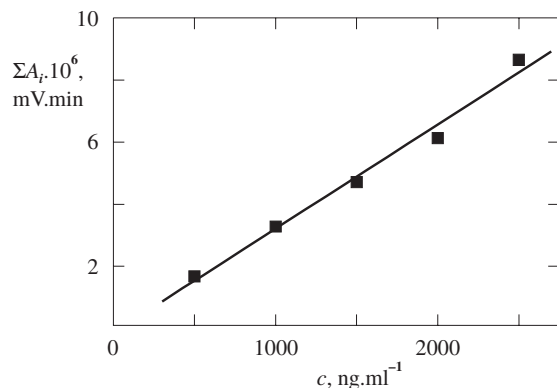
-17 A Vers.3 (Shimadzu, Japonsko) s plameňovo ionizačným detektorom (FID). Vzorky sa do kolóny dávkovali metódou splitless (1 min). Ako nosný plyn sa použilo hélium. Vodík a vzduch sa použili ako prídavné plyny do FID. Injektor sa vyhrial na 320 °C a detektor na 350 °C. Vzorky sa dávkovali 10  $\mu$ l striekačkou, prietoková rýchlosť nosného



Obr. 1. Separácia plynového oleja klasickou kapilárnou plynovou chromatografiou v kolóne CP Sil 5 CB (kolóna A); teplotný program: počiatočná teplota 60 °C (5 min), rýchlosť zvyšovania teploty 15 °C.min<sup>-1</sup>, konečná teplota 310 °C (15 min); odozva detektora  $U$  (mV)



Obr. 2. Separácia oleja # 350 (1420 ng) (klasickou kapilárnou plynovou chromatografiou v kolóne CP Sil 5 CB (kolóna A); teplotný program ako pri obr. 1; odozva detektora  $U$  (mV)



Obr. 3. Závislosť plochy pre všetky píky ( $\Sigma A_i$ ) od koncentrácie  $c$  (ng.ml<sup>-1</sup>) získaná separáciou modelových vzoriek oleja # 350 (500–2500 ng) klasickou kapilárnou chromatografiou

plynu (hélia) sa nastavila v rozsahu od 30–35 cm.s<sup>-1</sup> pre klasickú a 300–350 cm.s<sup>-1</sup> pre rýchlu kapilárnu plynovú chromatografiu.

Na spracovanie signálu FID, zaznamenávanie, uchovávanie a vyhodnotenie chromatografických záznamov sa využil program Peak 96 a integračný program HP Chem 3365 (Hewlett-Packard, Avondale, USA)<sup>2</sup>.

#### Chromatografické kolóny

Kolóna A: Kremenná kolóna CP Sil 5 CB, 25 m  $\times$  0,32 mm I.D., 0,12  $\mu$ m hrúbka filmu poly(dimetylsiloxán)ovej fázy.

Kolóna B: WCOT Ultimetal CP-SIL PAH CB, 45 cm  $\times$  0,5 mm I.D., 0,12  $\mu$ m hrúbka filmu poly(dimetylsiloxán)ovej fázy.

Kolóny poskytla firma Chrompack International, Middelburg, Holandsko.

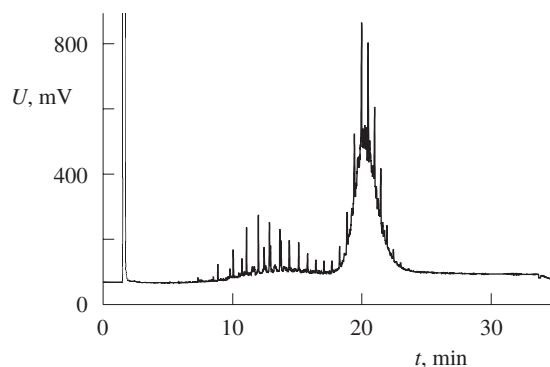
#### Vzorky

Ropné destilačné frakcie (plynový olej, oleje # 350 a 635) a zmesi *n*-alkánov sa získali zo Sloznaftu a.s., Bratislava. Plynový olej sa rozpustil v *n*-hexáne. Roztoky ostatných ropných frakcií sa pripravili rozpustením návažkov v toluéne.

#### Výsledky a diskusia

Na obr. 1 a 2 sú uvedené chromatogramy získané separáciou 1000 ng plynového oleja (obr. 1) a 1420 ng oleja # 350 (obr. 2) v kapilárnej kolóne za podmienok klasickej kapilárnej plynovej chromatografie. Číslice na týchto obrázkoch označujú počet uhlíkových atómov v *n*-alkánoch, ktoré sa identifikovali elučnými časmi nameranými separáciou olejov a referenčných *n*-alkánov za rovnakých podmienok.

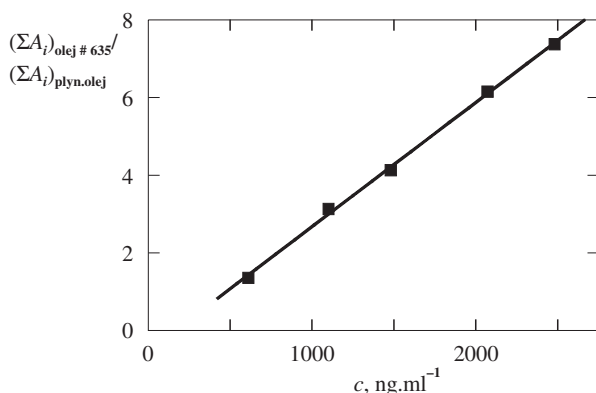
Na obr. 3 je kalibračná krivka (závislosť súčtu plôch pre všetky píky eluujúce medzi 12 až 30 min od dávkovanej množstva) získaná separáciou rôznych hmotností oleja # 350 metódou GC-FID za podmienok klasickej kapilárnej plynovej chromatografie. Regresnou analýzou údajov, ktoré sa použili na zostrojenie kalibračnej čiary, sa zistilo, že závislosť možno popísať rovnicou priamky  $\Sigma A_i = -140\,170 + 235,4 x$  (ng)



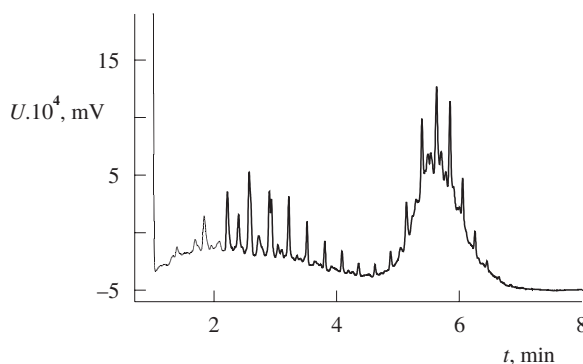
Obr. 4. Separácia zmesi oleja # 635 (2000 ng) a plynového oleja (500 ng) klasickou kapilárnou plynovou chromatografiou v kolóne CP Sil 5 CB (kolóna A); teplotný program ako pri obr. 1; odozva detektora  $U$  (mV)

s akceptovateľným korelačným koeficientom  $r = 0,9977$ ). Z absolútneho člena tejto rovnice však vyplýva, že stanovenie je zaťažené značnou systematickou chybou.

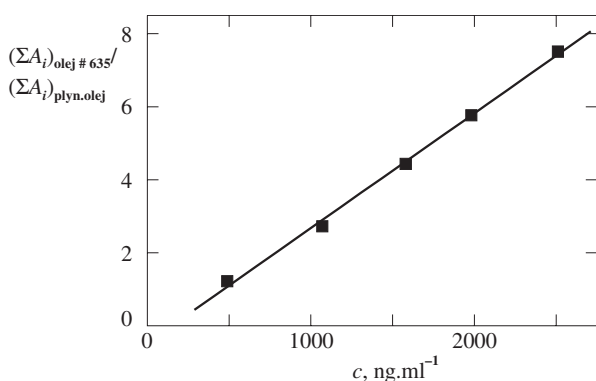
Zistili sme, že výťažnosť extrakcie vyššie vriacich ropných



Obr. 5. Závislosť pomeru plôch pre všetky píky  $(\Sigma A_i)_{\text{olej \# 635}} / (\Sigma A_i)_{\text{plyn.olej}}$  od koncentrácie  $c$  ( $\text{ng.ml}^{-1}$ ) získaná separáciou modelových vzoriek oleja # 635 (500–2500 ng) a plynového oleja (1000 ng) klasickou kapilárnou chromatografiou



Obr. 6. Separácia zmesi oleja # 635 (2000 ng) a plynového oleja (1000 ng) rýchlnou kapilárnou plynovou chromatografiou v kolóne Ultimetall CP-SIL PAH CB (kolóna B); teplotný program: počiatočná teplota  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$  (4 min), rýchlosť zvyšovania teploty  $40\text{ }^{\circ}\text{C.min}^{-1}$ , konečná teplota  $400\text{ }^{\circ}\text{C}$  (15 min), rýchlosť toku nosného plynu (vodíka)  $302\text{ cm.s}^{-1}$  (SEF = 391), odozva detektora  $U$  (mV)



Obr. 7. Závislosť pomeru plôch pre všetky píky  $(\Sigma A_i)_{\text{olej \# 635}} / (\Sigma A_i)_{\text{plyn.olej}}$  od koncentrácie  $c$  ( $\text{ng.ml}^{-1}$ ) získaná separáciou modelových vzoriek oleja # 635 (500–2500 ng) a plynového oleja (100 ng) rýchlnou kapilárnou plynovou chromatografiou

frakcií z vody a pôdy je výhodné hodnotiť prídavkom plynového oleja ako zmesného vnútorného štandardu. Separácia zmesi oleja # 635 (2000 ng) a plynového oleja (1000 ng) klasickou kapilárnou plynovou chromatografiou je na obr. 4.

Z rovnice kalibračnej čiary  $(\Sigma A_i)_{\text{olej \# 635}} / (\Sigma A_i)_{\text{plynový olej}} = -0,523 + 0,0032 x$  (ng) a korelačného koeficienta ( $r = 0,9993$ ) je zrejme, že závislosť na obr. 5 je priamková. Porovnaním korelačných koeficientov a absolútnych členov zistených pre čiary na obr. 3 a 5 možno zistiť, že metóda vnútorného štandardu je výhodnejšia, pretože eliminuje problémy s integráciou malých píkov a únikom nulovej línie.

Na obr. 6 je chromatogram získaný separáciou zmesi plynového oleja a oleja # 635 v kapilárnej kolóne za podmienok rýchlej plynovej chromatografie. Porovnaním obrázkov 4 a 6 možno zistiť, že zvýšením rýchlosti nosného plynu a skrátením kolóny sa podarilo trvanie separácie znížiť na tretinu. Z hodnoty zrýchľovacieho faktora (SEF = 391) však vyplýva, že separáciu na obr. 6 by bolo možné charakterizovať ako veľmi rýchlu<sup>4</sup>. Zo vzťahu pre výpočet zrýchľovacieho faktora je však zrejme, že týmto faktorom možno hodnotiť rýchlosť separácie len za izotermických podmienok, pretože pri programovanom zvyšovaní teploty sa elučný čas zložiek mení tak rýchlosťou toku nosného plynu kolónou ako teplotou kolóny. Vplyv teploty kolóny na elučný čas je však podstatne väčší, pretože rýchlosťou nosného plynu sa elučný čas skraca exponenciálne<sup>6</sup>.

Z porovnania obr. 4 a 6 ďalej vyplýva, že zrýchlením separácie (skrátením kolóny a zrýchlením nosného plynu v kolóne) sa značne znížila separačná účinnosť kolóny. Vyššie vriace ropné frakcie však obsahujú taký počet zložiek, ktoré plynovou chromatografiou v jednej kolóne nemožno rozlíšiť ani v kapilárnych kolónach s najvyššími doteraz publikovanými separačnými účinnosťami. Pretože zrýchlením separácie sa separačná účinnosť zhoršila, možno rýchlu separáciu na obr. 6 použiť len v prípadoch, pri ktorých sa nevyžaduje separácia maximálneho počtu zložiek, ako napríklad pri stanovení stupňa znečistenia životného prostredia, pri ktorom sa meria celková odozva detektora ako súčet plôch píkov extrahovateľných ropných látok  $\Sigma A_i$ .

Z rovnice kalibračnej čiary  $(\Sigma A_i)_{\text{olej \# 635}} / (\Sigma A_i)_{\text{plynový olej}} = -0,470 + 0,00315 x$  (ng) a korelačného koeficienta ( $r = 0,9988$ ) je zrejme, že závislosť na obr. 7 je priamková. Porovnaním rovníc a korelačných koeficientov zistených pre čiary na obr. 5 a 7 možno zistiť, že obe metódy poskytujú zrovnateľné výsledky.

## Záver

Vyššie vriace ropné destilačné frakcie sa analyzovali plynovou chromatografiou s plameňovoionizačným detektorom (CGC-FID) tak klasickou kapilárnou chromatografiou ako aj jej rýchlou modifikáciou. Zistilo sa, že na stanovenie celkového obsahu vyššie vriacich ropných destilačných frakcií v životnom prostredí metódou CGC-FID možno využiť tak kalibračnú krivku ako aj jej kombináciu so zmesným vnútorným štandardom. Zistilo sa, že ako zmesný vnútorný štandard možno využiť plynový olej. Tak klasická kapilárna GC-FID ako aj jej modifikovaná rýchla verzia poskytujú zrovnateľné výsledky napriek tomu, že v rýchlej verzii sa značne zhoršila separačná účinnosť kapilárnej kolóny.

Vďaka autorov patrí Ing. J. Mlynárovi (Shimadzu Slovakia o.z.) za zapožičanie plynového chromatografu GC-17A Vers.3 a J. de Zeeuw (Chrompack International, Middelburg, Holandsko) za poskytnutie kapilárnych kolón. Agentúre VEGA ďakujeme za grant VEGA 1/9127/02.

## LITERATÚRA

1. O'Shay T. A., Hoddinott K. B.: *Analysis of Soils Contaminated with Petroleum Constituents*. ASTM, Philadelphia 1994.
2. Dagan S., Amirav A.: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 7, 737 (1996).
3. Jensen T. S., Arvin E., Svensmark B., Wrang P.: *Soil Sediment Cont.* 9, 549 (2000).
4. Morel G.: *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 63, 269 (1996).
5. Krupčík J., Oswald P., Špánik I., Benická E., Daučík P.: *Chem. Listy* 93, 628 (1999).
6. Grob R. L. (ed.): *Modern Practice of Gas Chromatography*, 3. vyd. Wiley, New York 1997.

**J. Krupčík, P. Oswald, E. Benická, and J. Mydlová** (*Department of Analytical Chemistry, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Bratislava, Slovak Republic*): **Calibration of the FID Response for High-Boiling Petroleum Fraction Analyses by Classic and Fast Capillary Gas Chromatography**

The results of analysis of high-boiling petroleum fractions by classic capillary gas chromatography with flame ionization detector (CGC-FID) were compared with those obtained in short capillary columns under conditions of fast capillary gas chromatography. For the determination of the high-boiling fractions by CGC-FID, both the calibration curve and its combination with internal standard were proposed. It was confirmed that light gas oil can be used as an internal standard for the analysis of high-boiling petroleum fractions in environmental samples. Both the classic capillary gas chromatography and its modified fast version give comparable results in spite of a significant drop in the column efficiency at the last stage.



**CHEMICKY MODIFIKOVANÁ SLÍDA****VÁCLAV ŠTENGL, JAN ŠUBRT  
a SNEJANA BAKARDJIEVA***Ústav anorganické chemie, Akademie věd České republiky,  
250 68 Řež u Prahy  
e-mail: stengl@iic.cas.cz*

Došlo dne 18.III.2002

Klíčová slova: slída, muskovit, pigment, delaminace, bariérový efekt

**Obsah**

1. Úvod
2. Postup syntézy
3. Charakterizace slídových pigmentů pomocí elektronové mikroskopie
4. Aplikace slídových pigmentů
5. Závěr

**1. Úvod**

Slída se jako přírodní minerál vyskytuje v mnoha modifikacích. Její základní složení lze popsat sumárním vzorcem  $AB_{2-3}(X, Si)_4O_{10}(O, F, OH)_2$ , kde A je nejčastěji draslík, ale může být zastoupen také sodíkem, vápníkem, baryem, cesiem, případně amonným iontem. Ion B může být hliník, lithium, železo, zinek, chrom, vanad, titan, mangan nebo hořčík. Ion X je nejčastěji hliník, případně může být zastoupen berylliem, borem nebo železem. Je známo více než 30 druhů jednotlivých slídových minerálů; mezi nejznámější patří světlý muskovit  $KAl_2(AlSi_3O_{10})(F, OH)_2$ , tmavý biotit  $K(Fe, Mg)_3AlSi_3O_{10}(F, OH)_2$ , růžový lepidolit  $KLi_2Al(Al, Si)_3O_{10}(F, OH)_2$  a také železem tmavě zabarvený flogopit  $KMg_3AlSi_3O_{10}(OH)_2$  a cinnvaldit  $KLiFeAl(AlSi_3O_{10})(OH, F)_2$ .

Slída má jako materiál velmi široké uplatnění vzhledem ke svým vynikajícím vlastnostem, jako jsou např. stabilita a inertnost k vodě, olejům, ředidlům, kyselinám i jiným chemickým činidlům, pružnost, dokonalá štípatelnost (schopnost rozlískovat se – delaminovat), vysoká dielektrická pevnost a vynikající elektroizolační vlastnosti, dále je netavitelná, nezápalná s nízkou tepelnou vodivostí, dobrý tepelný izolant s vynikající tepelnou stabilitou (zachovává si své vlastnosti až do teploty 1200 °C). V tenkých šupinkách je transparentní a má vysoký lesk. Jednou z nejčastějších aplikací slídy (mimo použití v elektrotechnice) je použití muskovitu jako pigmentu, zejména v průmyslu nátěrových hmot a v plastikařském průmyslu.

Průmyslově vyráběny jsou pigmenty na bázi slídy o průměru lístečků řádově desítek  $\mu m$  a tloušťce okolo 1  $\mu m$ , pokryté vrstvičkou oxidu titaničitého – anatasu nebo rutilu. Tato vrstva se tvoří na povrchu slídy řízenou hydrolyzou chloridu titaničitého roztoky alkálií. Barevný odstín vzniká

interferencí světla na vyloučené vrstvě<sup>1</sup>. Na základě tohoto jevu se tyto pigmenty označují jako „interferenční pigmenty“ nebo častěji jako „pigmenty perleťové“. Podle tloušťky vrstvičky oxidu titaničitého mají tyto pigmenty zabarvení stříbrné, zlaté, světle modré až načervenalé. Tyto barevné odstíny jsou slabé a zesilují se přidáním další vrstvičky z oxidů kovů, hlavně železa, chromu a kobaltu. Tímto postupem však nelze připravit lístečkové pigmenty s větší velikostí částic (nad 80  $\mu m$ ) a s intenzivnějším zabarvením. Perleťové pigmenty jsou nejčastěji používány v kosmetice (šampony), v plastikařském průmyslu (obaly) a v metalických lacích v automobilovém průmyslu. V této práci je popsán postup syntézy intenzivně zabarvených lístečkových pigmentů na bázi slídy pokryté oxidy kovů s širokým rozmezím velikosti částic.

**2. Postup syntézy**

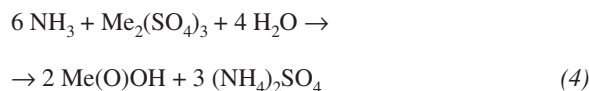
Vodný roztok močoviny v kyselém i zásaditém prostředí podléhá hydrolyze, kterou je možno popsat souhrnnou rovnicí



Přehled mechanismů hydrolyzy močoviny je publikován v práci<sup>2</sup>. Z hlediska průmyslové praxe je nejdůležitější mechanismus<sup>3</sup>



Uvolněný amoniak reaguje se sírany přechodných kovů za vzniku hydrolytických produktů, které se usazují na povrchu slídy a následnou tepelnou úpravou přejdou na oxidy:

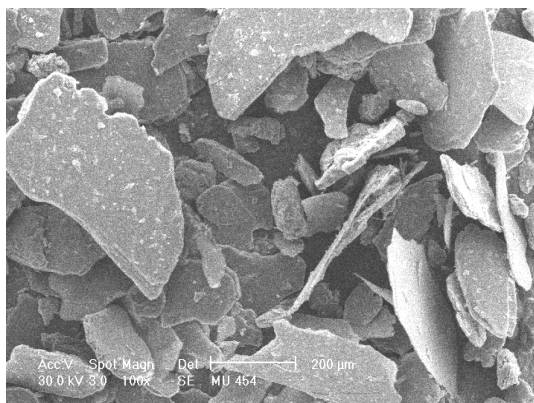


V procesu barvení slídy (resp. lístečkových nosičů) je využíváno schopnosti primárních produktů vzniklých při hydrolyze síranů kovů močovinou navzájem se shlukovat, resp. ulpívat na povrchu jiných částic.

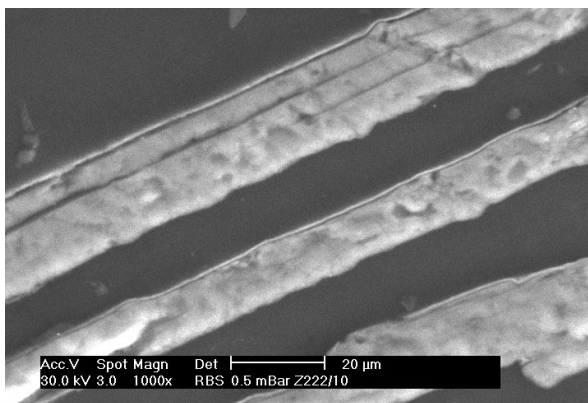
Byl vypracován obecný postup vylučování vrstviček oxidů kovů na lístečkových (destičkových) materiálech, a tento postup byl patentován<sup>4-6</sup>. Reakcí síranů některých kovů (Ti, Cr, Fe, Co, Ni, Mn, Zn, Al a Sb) s močovinou ve vodném prostředí za zvýšené teploty je možné na povrchu slídy vyloučit vrstvičku hydroxidů kovů, která tepelnou úpravou přejde na vrstvu oxidů s pevnou chemickou vazbou se skupinami OH na povrchu slídy. Při žhání nedochází ke změně tvaru, destrukci částic nebo jejich spékání, ale dochází pouze ke změně jejich barvy, takže lze volbou vhodné teploty a doby žhání ovlivnit konečné zabarvení produktu. Vlastnosti a zabarvení takto získaného pigmentu jsou závislé pouze na zrnitosti a stupni delaminace (rozlískování) použité slídy, dále na síle (tloušťce) vyloučené vrstvy a typu oxidu kovu použitého pro modifikaci.

Takto připravené lístečkové pigmenty mají vlastnosti přírod-

ní slídy, tj. laminární profil, a navíc zvýšenou nepropustnost UV záření, zvýšenou odolnost vůči kyselinám a zásadám, oproti přírodní slídě jsou hydrofilní a mají větší smáčivost. Jestliže se použije tzv. mikromletá, resp. mikronizovaná slída, tj. slída do velikosti 20  $\mu\text{m}$ , je vzhled slídového pigmentu obdobný klasickým sráženým pigmentům. Při velikosti slídových částic nad 40  $\mu\text{m}$  dostává pigment vzhled charakteristický pro slídu, tj. lesk a šupinatost. Tyto pigmenty se vyznačují sytým barevným odstínem, kterého nelze u klasických interferenčních pigmentů dosáhnout. Pigmenty připrave-



Obr. 1. Mikroskopický snímek muskovitu s označením MU-454



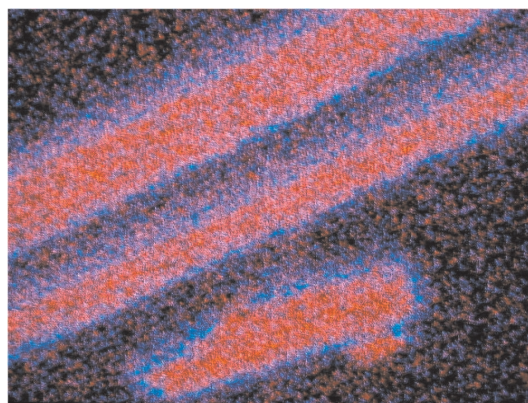
Obr. 2. Mikroskopický snímek řezu muskovitu

né z takto modifikovaných slíd jsou podle síly vyloučené vrstvy a tepelné úpravy lesklé nebo matné. Podle druhu použitého kovu pro modifikaci slídy je možno získat bílou, žlutou, modrou, zelenou, červenou a černou barvu a dále celou škálu zlatých a bronzových odstínů. Většina takto připravených pigmentů má tepelnou stálost do 1200 °C.

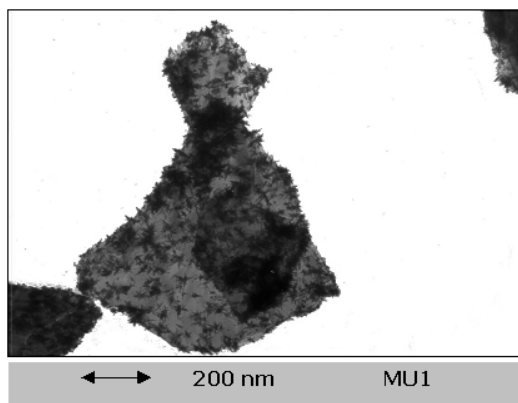
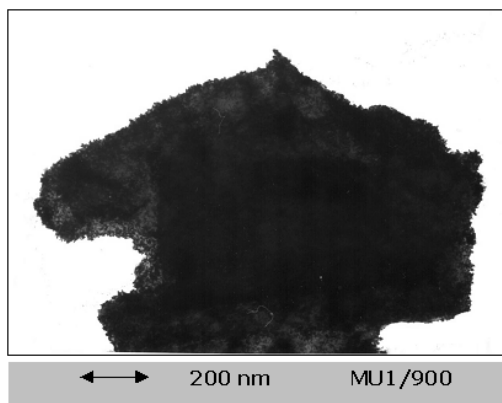
### 3. Charakterizace slídových pigmentů pomocí elektronové mikroskopie

Vrstvu vyloučeného oxidu na povrchu modifikované slídy lze velmi dobře zobrazit a identifikovat skenovacím elektronovým mikroskopem (SEM). Na obr. 1 je mikroskopický snímek muskovitu. Řezy slídou jsou uvedeny na obr. 2. Na takto připraveném vzorku lze metodou mapování prvků pozorovat vrstvu oxidu na povrchu slídy. Na obr. 3 je slída modifikovaná oxidem železitým. Jak je z obrázku zřejmé, pokrytí slídy vrstvou oxidu železitého je rovnoměrné a vrstvička oxidu je od slídového nosiče zřetelně oddělena. Tloušťka vrstvy  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  na slídovém nosiči je přibližně 1  $\mu\text{m}$ .

Jestliže máme dostatečně delaminovanou slídu s tloušťkou pod 0,1  $\mu\text{m}$ , je možné pozorovat vrstvičku oxidu transmisním elektronovým mikroskopem (TEM). Na obr. 4 a 5 je mikroskopický obrázek vrstvičky  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ , na obr. 6 a 7 je mikroskopický snímek vrstvičky  $\text{TiO}_2$  na muskovitu po modifikaci a poté po vyžhání při teplotě 900 °C. Jak je patrné z těchto



Obr. 3. Slída modifikovaná oxidem železitým; atomy Si jsou zobrazeny červeně, atomy Fe modře

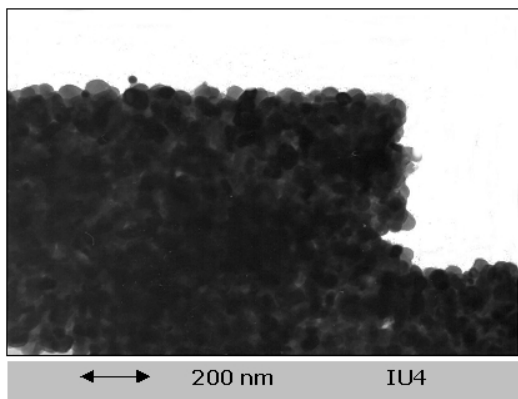
Obr. 4. Mikroskopický snímek vrstvičky  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  na slíděObr. 5. Mikroskopický snímek vrstvičky  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  po vyžhání na 900 °C

mikroskopických snímků, tvoří vrstvička oxidů po vyžhání na povrchu slídy souvislou vrstvu.

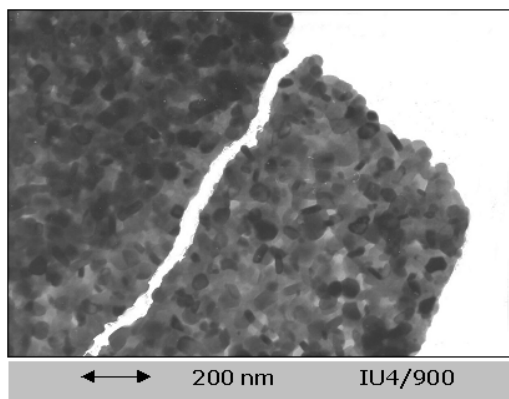
#### 4. Aplikace slídových pigmentů

Použitelnost slídového pigmentu závisí na velikosti částic slídy. Mikronizované modifikované slídy se dají použít jako

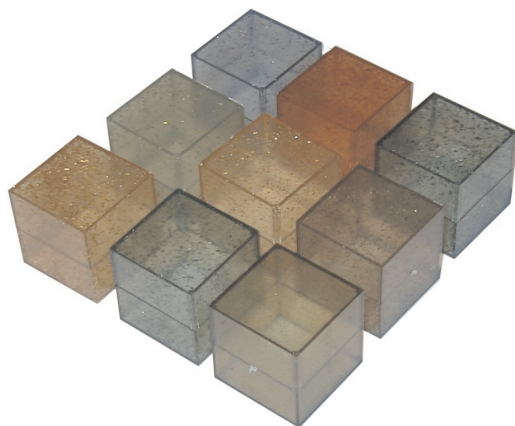
náhrada klasických pigmentů do nátěrových hmot. Pigment se zrnitostí nad  $40\ \mu\text{m}$  lze použít v plastech jako dekorativní pigment nebo jako náhrada tzv. blistrů, což jsou stříhané lesklé hliníkové plíšky, barvené organickými pigmenty. Obr. 8 a 9 představuje použití slídového pigmentu v polystyrenu. Dále je možno slídový pigment použít s výhodou pro jeho tepelnou stabilitu také v keramických fritách a jako dekorativní pigment ve skle (obr. 10 a 11) a v keramice.



Obr. 6. Mikroskopický snímek vrstvičky  $\text{TiO}_2$  na slídě



Obr. 7. Mikroskopický snímek vrstvičky  $\text{TiO}_2$  po vyžhání na  $900\ ^\circ\text{C}$



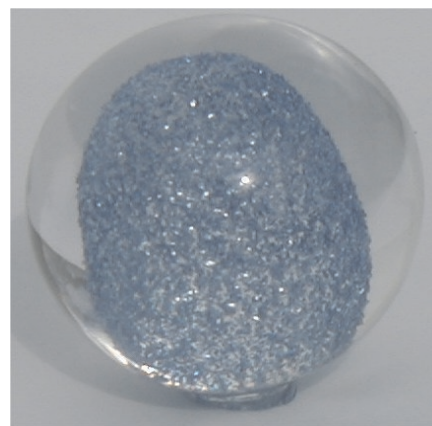
Obr. 8. Aplikace slídového pigmentu v transparentním Kraštenu



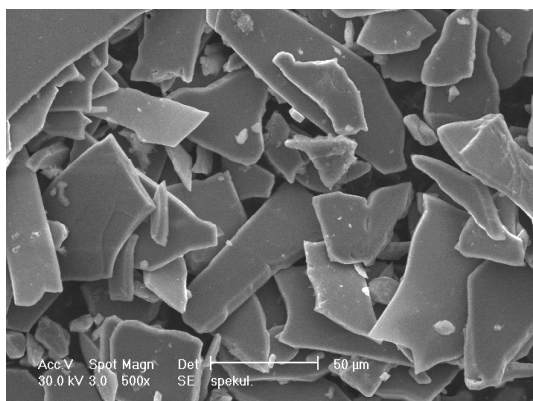
Obr. 9. Aplikace slídového pigmentu v bílém Kraštenu



Obr. 10. Použití barevné slídy jako dekorativního pigmentu ve skle



Obr. 11. Použití barevné slídy jako dekorativního pigmentu ve skle



Obr. 12. Mikroskopický snímek přírodního pigmentu spekularitu

Další možnou aplikací je použití slídy modifikované oxidem železitým ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) jako bariérového pigmentu v průmyslu nátěrových hmot. Pro těžkou korozní ochranu se v nátěrových hmotách používá přírodní pigment spekularit ( $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ), který také bývá nazýván „železitou slídou“ (viz obr. 12). Lístekové částice se uspořádají v nátěru paralelně s povrchem podkladu, nátěr mechanicky zpevňují a s ohledem na nepropustnost oxidu železitého vůči ultrafialovému záření zabraňují i foto-degradaci nátěru.

## 5. Závěr

Byl nalezen obecný postup syntézy barevných vrstviček nerozpustných hydroxidů a oxidů kovů na povrchu částic slídy hydrolyzou vodných roztoků jejich síranů s močovinou. Při žhání do  $1200\text{ }^\circ\text{C}$  nedochází ke změně tvaru, destrukci částic nebo jejich spékání. Takto připravené pigmenty se ukázaly vhodné pro aplikace v plastech, keramice, nátěrových hmotách a skle i jako náhrada spekularitu jakožto bariérového

pigmentu. Výroba slídového pigmentu je zajištěna ve firmě Silchem s.r.o. Ústí nad Labem<sup>7</sup>. Další informace o chemicky modifikované slídě a jejích aplikacích jsou uvedeny na internetu<sup>8,9</sup>.

*Práce vznikla v rámci řešení projektů MPO ČR PZ-CH/06 (1997-2001) a FD-K/005.*

## LITERATURA

1. Lewis P. A.: *Pigment Handbook*, sv. 1. Wiley, New York 1988.
2. Lee I., Kim K. C., Lee B. C.: *J. Phys. Org. Chem.* 2, 281 (1989).
3. *Kirk-Othmer – Encyclopedia of Chemical Technology*, sv. 23. Wiley, New York 1983.
4. Šubrt J., Boháček J., Štengl V., Grygar T., Bezdička P.: *Mater. Res. Bull.* 34, 905 (1999).
5. Štengl V., Šubrt J.: PV 3458-96.
6. Štengl V., Šubrt J.: PV 2000-2813.
7. e-mail: silchem@mbox.vol.cz.
8. www.iic.cas.cz (1998).
9. www.triboson.com (1999).

**V. Štengl, J. Šubrt, and S. Bakardjieva** (*Institute of Inorganic Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Řež near Prague*): **Chemically Modified Mica**

The surface-colored mica pigment is mica chemically modified by controlled homogeneous hydrolysis of sulfates mainly of transition metals, such as Ti, Cr, Fe, Co, Ni, Zn, Al, and Cu, in the presence of urea, with possible thermal after-treatment. Properties of the resulting pigment depend on granularity of mica, its degree of delamination, and on the thickness of the deposited metal oxide used after delamination. Flakes of colored mica were coated with metal oxide layers by homogeneous precipitation of metal sulfates with urea in aqueous medium at  $95\text{--}98\text{ }^\circ\text{C}$ .