

Jak podvádět: správná laboratorní praxe

Vědu dělají lidé, lidé podvádějí a podvody tudíž patří k vědě. Podvádí se na všech úrovních, studenty při laboratorních cvičeních počínaje a významnými vědci konče. Jakkoliv jsou podvody rozšířené, jejich autoři se jich dopouštějí amatérsky, bez formálního vedení. Každý podvodník tak znovu a znovu objevuje již dávno objevené, často za cenu nesmírných osobních obětí. Nikdo ho totiž naučí a nikde se nedoče, jak podvádět správně. Podvodné konání jako neexistující výzkum, plagiátorství a podobné aktivity (jako ghostwriting) představují přitom velmi rychle se rozvíjející segment trhu, s odhadovaným obratem ve stovkách milionů dolarů¹.

Tento úvodník si klade za cíl politováníhodnou mezeru ve výchově kvalifikovaných podvodníků alespoň částečně zacelit. Jenže hned zkrájíme narážíme na problém. Jak se pozná takový dobře provedený, nezřetelný podvod? Shledávám dva základní atributy (1) autor podvodu získá prospěch, ať už ve formě hmotné či duchovní (proslulost, sexuální služby), (2) podvod zůstane neodhalen. V druhé podmínce hned vidíme kámen úrazu. Pokud podvod není odhalen, nemohu o něm psát a čtenář se nepoučí. Mohl bych úvodník zachránit popisem svých vlastních dosud neodhalených podvodů. Tím by se však silou definice podvod úspěšný přeměnil na podvod neúspěšný a úvodník by byl znehodnocen.

Nezbývá tak než omezit náš výklad na “poučení z krizového vývoje”, tj. podívat se na několik podvodů odhalených, na kterých si ukážeme, jakých chyb se vyvarovat. Nejdříve si ujasněme, co NENÍ podvod. Za podvod nebudeme považovat omyl a to ani tehdy, pokud příběh splňuje kritéria tzv. patologické vědy². Podvodem tedy není polyvoda³ ani studená jaderná fúze. K podvodům v pravém slova smyslu nepatří také tzv. kachny (hoax), ba v kontextu tohoto článku ani grantové projekty MPO⁴.

Zformulujme na začátek několik základních postřehů či rad:

1. Experimentální výsledky musejí mít statistickou chybu.
2. Různé experimenty mají různou statistickou chybu.
3. Čím zajímavější výsledek, tím větší šance na odhalení.
4. Pokud máte pravdu, historie vám podvod odpustí.
5. K podvodu se nepřiznávejte, ani když je průkazně doložen.

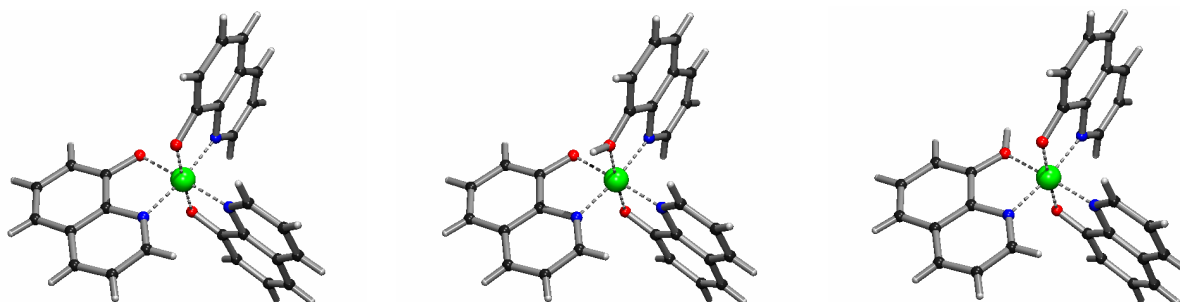
A nyní pár příběhů. Pojem statistické chyby dnes zná každý student. Ještě v 19. století se ale příroda či Bůh jevíli dokonalejšími. Řada tehdejších badatelů se proto zjevně snažila vyjít svému štěstí vstříc. Příkladem může být moravský augustinián Gregor Mendel (v kontextu úvodníku o podvodech můžeme snad i přiznat Mendelovo německví). Mendel sám si příliš slávy za své genetické objevy neužil. Ta přišla až po jeho smrti, na počátku 20. století po znovuobjevení jeho zákonů i jeho samého. Ve třicátých letech ale dospěl zakladatel moderní statistiky R. A. Fischer pečlivou analýzou Mendelových experimentů ke známému

závěru “Too good to be true”. A takováto opomenutí zcela nevyhmizela. Na statistickou chybu dodnes často zapominají autoři fyzikálních či chemických příkladů.

Příběh druhý spadá již do 21. století. Na jeho počátku se ve fyzice objevila nová hvězda. Mladý absolvent univerzity v Kostnici pracující v Bellových laboratořích Jan Hendrik Schön počal psát hned několik kapitol do dějin vědy. Během dvou let se stal možná nejviditelnějším představitelem molekulární elektroniky. Zkonstruoval tranzistor na úrovni jediné molekuly, připravil organické fotovoltaické diody, publikoval o supravodičích na bázi C₆₀. Jeho práce vedla mimo jiné k 7 publikacím v Nature a 8 v Science. Jenže pak si jeden z recenzentů všiml, že statistická chyba je zcela identická pro různá Schönova měření! Tohle porušení rady č. 2 stálo tohoto jinak brilantního mladého badatele kariéru.

Schön ovšem porušil i pravidlo číslo 3. Dost jistou cestou k zamezení odhalení je publikovat tak nezajímavá sdělení, že nikoho ani nenapadne, že by se měl obtěžovat vaše články číst, tím méně opakovat vaše pokusy. Podvodník pak může nezajímavých článků bez obav vytvořit velké množství, času má dost, podvod typicky zabere méně času než skutečný experiment. Zisk na frontě osobní prestiže není velký, ale bodový zisk v soutěži vypisované u nás kupř. Radou vlády pro vědu a výzkum vše vynahradí. Zejména pro mladého, začínajícího badatele je přitom obtížné určit hranici nezajímavosti. Poučný je příběh Guido Zadela, který byl v devadesátých letech Ph.D. studentem na univerzitě v Bonnu. Dostal za úkol prozkoumat možnost enantioselektivní syntézy v magnetickém poli. Práce mu nešla od ruky, takže si výsledky nejspíše vymyslel – dle svého tvrzení dostal slušné (ale uvěřitelné) enantioselektivní obohacení při Grignardově reakci CH₃MgBr s benzaldehydem. Naneštěstí jde o téma nesmírně zajímavé, pokud by to byla pravda, změnila by tato práce farmaceutický průmysl. Zadel byl záhy odhalen a boží mlýny mu po deseti letech semlely i jeho doktorský titul, ač Zadel sám pochybení nikdy nepřipustil.

Dozdržení pravidla č. 3 je mocnou zbraní podvodníka, ale ani to někdy nestačí. Časopis Acta Crystallografica E nedávno oznámil, že minimálně 70 článků od autorů z Ťing-kang Šanské univerzity (Jinggangshan University) v Ji'an (Jian, Čína) představuje zjevný podvod, přičemž číslo ještě není konečné⁵. Tito autoři publikovali velké množství krystalových struktur nových sloučenin. Struktury získali tak, že u známé sloučeniny (často publikované cizími výzkumnými skupinami) vyměňovali kovový kation či část ligandu, ručně pozměnili geometrie a také soubory s experimentálně získanými strukturálními faktory (obr. 1). O nijak zajímavé molekuly nešlo. Stali se však obětí nově vyvíjeného kontrolního software, který je schopen porovnávat struktury a strukturální faktory z různých krystalů. Proti kontrolnímu software by se snad dalo bojovat ještě



Obr. 1. Tři struktury, tři publikace. Struktury komplexů chinolinu s trojmocným kobaltem (vlevo, Zhong H., Zeng X.-R., Liu Y.-Q., Luo Q.-Y.: Acta Cryst. E62, m3557–m3559 (2006)), dvojmocným niklem (uprostřed, Zhong H., Zeng X.-R., Liu Y.-Q., Luo Q.-Y.: Acta Cryst. E63, m187–m189 (2007)), a dvojmocným zinkem (napravo, Zhong H., Zeng X.-R., Luo Q.-Y., Li M.-L., Xiao S.-Z.: Acta Cryst. E63, m492–m494 (2007))

sofistikovanějším programem. Každý podvodník by ale měl mít na paměti, že snaha o dokonalý podvod by totiž neměla dát více námahy než poctivé provedení experimentu.

Stručný komentář si zaslouží i rada č. 4. V historii vědy nalezneme řadu prominentních případů, kdy zacházení s experimentálními fakty nesplňovalo kritéria dnešní doby. Široce diskutovány byly například Millikanovy experimenty s olejovými kapičkami, které vedly k změření náboje elektronu a k Nobelově ceně pro Millikana⁶. Ze záznamů laboratorního deníku je totiž zřejmé, že Millikan nikoliv nevýznamnou část “nevyhovujících” výsledků jednoduše vyřadil. S čistým štítem nevyšla ani ikona moderní chemie John Dalton. Svou atomickou hypotézu formuloval z experimentálních zákonů stálých a násobných poměrů slučovacích. Ty byly založeny na jeho pokusech s oxidy dusíku. Rovnováha mezi oxidy dusíku je ale daleko komplikovanější než si Dalton představoval. Jeho experimenty byly nedávno zopakovány⁷ se závěrem, že Dalton nejspíše nepodváděl ve smyslu fabrikace výsledků, nicméně že svých výsledků by nikdy nedosáhl, pokud by předem nevěděl, jaké výsledky získat má. V mnoha detailech se tedy mýlil, ale v principu měl pravdu. Tuto strategii podvádění považují osobně za nejvýhodnější.

Když všechny rady selžou, zbývá ještě poslední poučení č. 5. Totiž nikdy se nepřiznat, chybu nepřipustit. Případ Guido Zadela sice ukazuje, že v některých zemích můžete dopadnout špatně i když zapíráte. U nás je ale situace pořád nadějnější. Jako příklad můžeme uvést bývalého poslance Jiřího Honajzera, u něž se komise shodla na

plagiátorské povaze jeho doktorské práce. Jiří Honajzer byl potrestán formou mravního apelu, což nesl dočista statečně.

Před více než 100 lety napsal Tomáš G. Masaryk malé, svěží dílko „Jak pracovat?“. Kniha „Jak podvádět?“ na své sepsání teprve čeká. Doba je myslím na její sepsání zralá, jako typickému aplikovanému výzkumu se jí bez pochyby dostane náležitá podpora.

Děkuji doc. Jiřímu Kolafovi (VŠCHT) za pomoc při české transkripci čínských jmen a doc. in spe Janu Kotkovi (PřF UK) za vyhledání souřadnic k obr. 1.

Petr Slaviček

LITERATURA

1. J. Qiu: Science 463, 142 (2010).
2. I. Langmuir: Physics Today 42, 36 (1989).
3. P. Jungwirth: Chem. Listy 102, 227 (2008).
4. http://blog.ihned.cz/c3-38997070-YOpatr_d-financovani-aplikovaneho-vyzkumu-aneb-jak-drubez-elektrarnou-omracovati, staženo 14.2. 2010.
5. W. T. A. Harrison, J. Simpso, M. Weil: Acta Crystallografica E66, e1-e2 (2010).
6. D. Goodstein: Eng. Sci. 2000, 30.
7. M. C. Usselman, D. G. Leaist, K. D. Watson: Chem. Phys. Chem. 9, 106 (2008).

VYUŽITÍ AFINITNÍ CHROMATOGRRAFIE PRO STUDIUM PŮSOBNÍ VYBRANÝCH OXYSTEROLŮ U ROSTLIN

MAREK KAMLAR^{a,b}, ONDŘEJ UHLÍK^{a,b},
ILONA CHLUBNOVÁ^b, LADISLAV KOHOUT^a,
JURAJ HARMATHA^a, RUDOLF JEŽEK^a,
MILOSLAV ŠANDA^{a,b}, ANDREA PIŠVEJCOVÁ^a
a TOMÁŠ MACEK^{a,b}

^a Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i., Flemingovo n. 2, 166 10 Praha 6, ^b Ústav biochemie a mikrobiologie, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 3, 166 28 Praha 6
macek@uochb.cas.cz

Došlo 3.8.09, přijato 16.10.09.

Klíčová slova: brassinosteroidy, ekdysteroidy, fytohormony, fytosteroly, osmotin, oxysteroly, RuBisCO, steroidní receptory, vazebné bílkoviny

Obsah

1. Úvod
2. Rostlinné oxysteroly
 - 2.1. Brassinosteroidy
 - 2.2. Ekdysteroidy
3. Afinitní chromatografie a její využití pro studium působení oxysterolů u rostlin
 - 3.1. Příprava kolon pro afinitní chromatografii
 - 3.1.1. Imobilizace steroidního ligandu na polymerní matici
 - 3.1.1.1. Tvorba amidové vazby
 - 3.1.1.1.1. Metoda aktivních esterů
 - 3.1.1.2. Tvorba esterové vazby
 - 3.2. Izolace a identifikace vazebných bílkovin
 4. Bílkoviny s afinitou k vybraným rostlinným oxysterolům
 - 4.1. Vazebné bílkoviny brassinosteroidů
 - 4.2. Vazebné bílkoviny ekdysteroidů
 5. Závěr

1. Úvod

Mezi nejprostudovanější skupiny rostlinných oxysterolů patří tzv. brassinosteroidy (BR) a ekdysteroidy (ES). Zatímco význam BR pro rostliny je znám – působí u nich zejména jako pozitivní regulátory jejich růstu a též jako látky schopné ovlivňovat adaptaci rostliny na stres^{1,2} – funkce ES v rostlinách dosud příliš objasněna není. Některé práce^{3–5} sice naznačují, že by u nich ES mohly hrát jistou roli v boji proti některým býložravým škůdcům a působit tedy jako jakési přírodní pesticidy, ale konečně „ano, je tomu skutečně tak“ stále vyřčeno nebylo a bude tak třeba ještě dalších potvrzujících studií.

O BR je také známo, že jsou hormonálně aktivní⁶ a že přenos signálu do buňky a následná buněčná odpověď jsou zprostředkovány systémem receptorů (příp. i vazebných bílkovin) lokalizovaných v buněčné membráně^{7,8}. Jak je tomu ale v případě ES, prozatím zřejmé není.

V souvislosti s objasněním mechanismu působení obou skupin těchto látek u rostlin je výzkum orientován převážně dvěma směry: první spočívá ve snaze o cílené odstranění (knock-out) či utlumení (knock-down) některého z genů ovlivňujících signální dráhu studovaných steroidů^{9,10}, druhý naopak využívá přímé izolace vazebných bílkovin či samotných receptorů, a to buď pomocí molekulárně-biologických metod^{11–13}, nebo s využitím afinitní chromatografie (AC), které se bude věnovat právě tato práce.

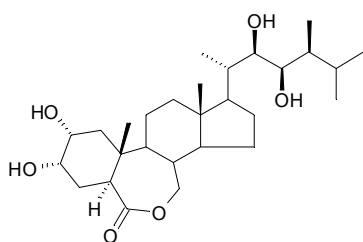
Kromě již výše zmíněného lze pro studium dané problematiky využít např. i fotoafinitního značení^{14,15}, radiochemických metod^{7,16,17} či jejich kombinace^{7,18}, dále pak troj-hybridního systému spojeného s aktivací tzv. reportérových genů^{19,20} a v neposlední řadě i metod založených na přenosu fluorescenčně rezonanční energie neboli FRET (z angl. fluorescence resonance energy transfer)^{21,22}.

2. Rostlinné oxysteroly

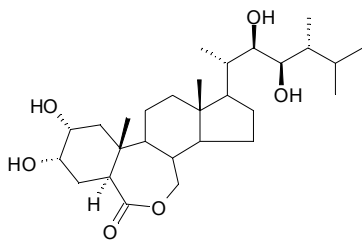
Jako oxysteroly (OS) označujeme steroidní alkoholy s 3β-hydroxylovou skupinou a 17β-alifatickým postranním řetězcem, které mají atomem kyslíku modifikován A- či B-kruh steranového cyklu, příp. i boční řetězec^{23,24}. Z rostlinných zástupců OS – též oxyfytoosterolů – jsou nejprostudovanější zejména kyslíkaté deriváty β-sitosterolu, kampesterolu a stigmasterolu^{25–27}, ale i jiné OS včetně již výše zmiňovaných brassinosteroidů²⁴ a ekdysteroidů²⁸, jimiž se dále budeme podrobněji zabývat.

2.1. Brassinosteroidy

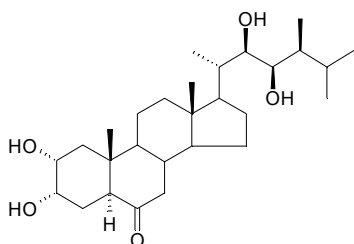
Brassinosteroidy (obr. 1) jsou látkami ryze rostlinnými. Mohou se v nich vyskytovat jednak volně a jednak vázané, přičemž vázanou formu většinou představují různé typy konjugátů, nejčastěji estery s nasycenými i nenasycenými kyselinami, méně často pak glykosidy²⁴. U rostlin přitom hrají nezastupitelnou roli: podporují tvorbu biomasy, růst a diferenciaci orgánů, příp. regulují počet a velikost semen a následně i plodů. Kromě toho se též podílejí na přizpůsobivosti rostliny nepříznivým životním podmínkám, jimiž jsou např. nedostatek živin, sucho či naopak



brassinolid, první objevený brassinosteroid



24-epibrassinolid



kastasteron, biosyntetický prekurzor brassinolidu

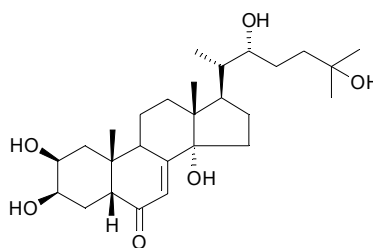
Obr. 1. Příklady přirozeně se vyskytujících brassinosteroidů

zamokření půdy, přítomnost herbicidů, toxických polutantů životního prostředí, nadbytek solí, chlad, popř. napadení rostliny škůdcem (patogenním mikroorganismem či třeba býložravým hmyzem), ale třeba i na oddalování senescence neboli stárnutí rostliny⁶.

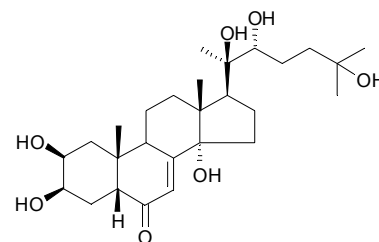
Výsledky studií z posledních let poukazují na to, že BR působí podobně jako peptidové hormony u živočichů prostřednictvím přenosu signálu přes receptor lokalizovaný na buněčné membráně. Někteří autoři^{7,29} hovoří o přímé vazbě steroidu, jiní⁸ zase o vazbě nepřímé, kdy nejprve dojde ke vzniku komplexu steroid-vazebná bílkovina a teprve ten se váže na receptor. Který z výše uvedených předpokladů je však ten správný, není, bohužel, stále zcela jasné.

2.2. Ekdysteroidy

Ekdysteroidy (obr. 2) byly oproti BR nalezeny jak u živočichů (např. u hmyzu a korýšů), tak u rostlin (nejhojněji jsou zastoupeny zejména ve špenátu a některých kapradinách)^{30,31}. Podobně jako v případě BR se mohou vyskytovat ve volné či vázané formě. Vázanou formu v tomto případě představují hlavně glukosidy a sulfáty²⁸. ES jsou někdy označovány rovněž jako tzv. svlékací hormony, a to díky vlivu na fáze zakuklení a svlékání (ekdyse) hmyzu. U něj kromě toho ovlivňují také tvorbu pohlavních feromonů a negativně též tzv. vitelogenesi⁴, tedy tvorbu



ekdyson, první objevený ekdysteroid



20-hydroxyekdyson

Obr. 2. Příklady přirozeně se vyskytujících ekdysteroidů

žloutku ve vajíčku. Co se však jejich významu pro rostliny týče, ten je i přes značný obsah ES v rostlinné tkáni stále nejasný. Na základě faktu, že ES zasahují do vývoje hmyzu, byla navržena hypotéza, podle níž by u rostlin mohly hrát roli v obraně proti některým býložravým škůdcům (zejména proti hmyzu a půdním hlísticím) a působit tedy jako jakési přírodní pesticidy^{3–5,32}. Pravdivost této hypotézy však dosud jednoznačně potvrzena nebyla a její ověření či naopak vyvrácení je tak předmětem dalších výzkumů.

3. Afinitní chromatografie a její využití pro studium působení oxysterolů u rostlin

Afinitní chromatografie (AC) je separační metoda založená na specifické a současně vratné interakci mezi dvěma molekulami dvou různých látek, tj. např. mezi li-

gandem navázaným na polymerní matici (sorbentem) a biomolekulou s afinitou k tomuto ligandu³³. V případě studia působení rostlinných steroidních hormonů pomocí AC je pak ligandem míněna látka steroidní povahy a biomolekulou její vazebná(é) bílkovina(y), resp. přímo bílkovinný(é) receptor(y).

Samotná izolace těchto bílkovin ze vzorku spočívá v jejich prvotním specifickém navázání na sorbent a po odmytí balastních bílkovin v jejich opětovném uvolnění, a to buď specificky působením kompetujícího ligandu, nebo nespecificky změnou podmínek prostředí (iontové síly, pH či teploty)^{33,34}. Získané bílkoviny jsou poté podrobovány elektroforetické separaci s následnou hmotnostně-spektrometrickou analýzou a její výsledky pak tvoří podklady pro jejich konečnou identifikaci.

3.1. Příprava kolon pro afinitní chromatografii

Jedním ze způsobů provedení AC je kontinuální systém v koloně. Ten skýtá oproti vsádkové metodě řadu praktických výhod, zejména pak možnost využít k eluci kontinuálních gradientů v případech, kdy sorbent není monospecifický, či třeba jen vyšší efektivitu AC danou lepším kontaktem mezi adsorbentem a samotným vzorkem mnohdy velkého objemu³⁴. Nespornou výhodou je také možnost automatizace celého procesu, např. napojením na nějaký střednětlaký chromatografický systém³⁵ umožňující jak UV detekci vymývaných či eluovaných bílkovin, tak i monitorování gradientu koncentrace elučních pufrů procházejících vodivostí celou, to vše s grafickým výstupem na monitoru počítače.

3.1.1. Imobilizace steroidního ligandu na polymerní matici

Prvním krokem při přípravě sorbentu pro afinitní chromatografii je navázání vhodného ligandu na polymerní matici. Způsob vazby závisí jednak na povaze ligandu a jednak na typu použité matrice. Pokud je ligandem nízkomolekulární látka (s relativní molekulovou hmotností do 1000), což v případě většiny steroidních látek platí, je nutné oddálit ligand od povrchu nosiče tak, aby se stal pro biomolekulu dosažitelný. K tomu slouží tzv. oddalující raménka (angl. spacer arms). Těmi jsou nejčastěji kratší lineární uhlovodíky, které jsou na jednom konci opatřeny skupinami, jimiž se vážou na nosič (např. primárním aminem nebo hydroxyskupinou), a na druhém konci skupinami, kterými se vážou na ligand, tedy např. amino- nebo karboxyskupinami^{33,36}.

Imobilizace steroidů na polymerní nosič vychází z klasické Merrifieldovy syntézy peptidů na pevné fázi³⁷, která však byla pro potřeby steroidních látek^{38–41}, příp. přímo BR a ES^{42,43}, různě modifikována. Protože v případě fytosteroidů či jejich syntetických analogů většinou není známo, která část jejich molekuly je zodpovědná za interakci steroid-bílkovina, je nutné připravovat více typů afinitních nosičů současně. Ligandy tak mohou být vázány pomocí –OH skupiny na A-kruhu či modifikované oxoskupiny na kruhu B, příp. prostřednictvím –OH či –COOH skupin na bočním řetězci. Nejčastějším typem vazeb, jichž je při tomto navazování využíváno, jsou vazby amidové a esterové a s jejich přípravou se nyní blíže seznámíme.

3.1.1.1. Tvorba amidové vazby

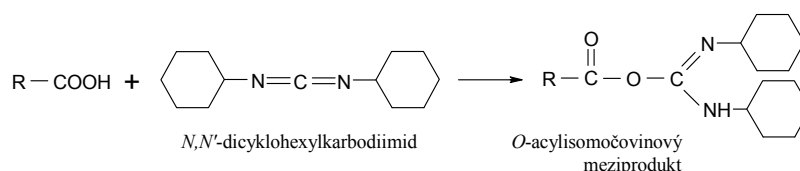
Pro tvorbu amidové vazby byly postupně vyvinuty zejména tyto čtyři metody: chloridová, azidová, metoda anhydridů a metoda aktivních esterů, přičemž nejčastěji používanou je poslední zmiňovaná^{39,44}.

3.1.1.1.1. Metoda aktivních esterů

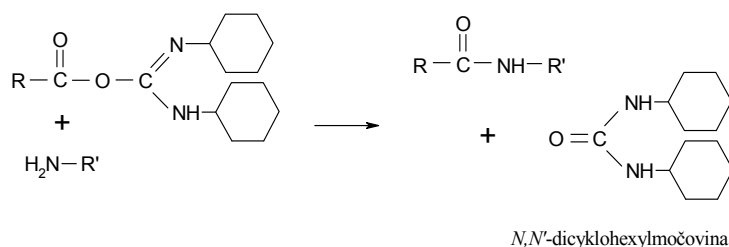
Počáteční snahy o využití aktivních esterů při syntéze na pevné fázi spadají již do období Merrifielda³⁷. Pro botnání pryskyřice byl tehdy používán zejména benzen, který se však pro své nedostatečné botnací schopnosti, které následnou reakci aktivních esterů s aminoskupinami matrice výrazně zpomalovaly, ukázal jako nevhodný. Další studie^{39,44,45} se zmiňují o dimethylformamidu, dimethylacetamidu, dichlormethanu a také o *N*-methylpyrrolidonu, které se naopak v syntéze na pevné fázi velmi osvědčily.

V případě tvorby amidové vazby mezi steroidním ligandem a volnými skupinami polymerní matrice, resp. oddalujícího raménka, byla prvním krokem aktivace karboxylové skupiny steroidního ligandu vedoucí k tvorbě aktivního esteru. K tomu se používají hlavně karbodiimidy a též *N*-hydroxybenzotriazol (1-hydroxybenzotriazol, HOBt) nebo jeho deriváty, např. BOP, HBTU, TBTU aj.⁴⁶

Nejužívanějšími karbodiimidy jsou *N,N'*-diisopropylkarbodiimid (DIC) a *N,N'*-dicyklohexylkarbodiimid (DCC, DCCI). Jejich působením na ligand s volnou –COOH skupinou vzniká meziproduct označovaný jako *O*-acylisomočovina (obr. 3). Ta poté reaguje s volnou –NH₂ skupinou molekuly druhé látky (druhý krok tvorby amidové vazby), čímž dojde k vytvoření amidové vazby mezi ligandem s karboxylovou skupinou a látkou nesoucí aminoskupinu za současného vzniku *N,N'*-diisopropyl-, resp. *N,N'*-dicyklohexylmočoviny (obr. 4).



Obr. 3. Příklad karbodiimidové metody



Obr. 4. Tvorba amidové vazby

N,N' -Dicyklohexylmočovina je velmi špatně rozpustná ve většině organických rozpouštědel, proto ji lze z výsledné směsi snadno odfiltrovat. Toho se využívá zejména v případech, kdy syntéza probíhá v roztoku. Jestliže ovšem syntéza probíhá na pevné fázi, je naopak výhodnější používat DIC, z něhož vznikající N,N' -diisopropylmočovina zůstává v roztoku, zatímco syntetizovaný peptid, resp. látka s amidovou vazbou zůstává zachycena, např. na fritě³⁹.

V průběhu tvorby amidové vazby karbodiimidovou metodou dochází také k reakci *O*-acylisomočoviny s karboxyskupinou dosud nezreagované kyseliny. Vzniká symetrický anhydrid, který následně reaguje s aminosložkou reakční směsi za vytvoření amidové vazby a opětovného uvolnění původně spotřebované kyseliny.

Karbodiimidy jsou látky velice reaktivní, aktivace tudíž probíhá velmi rychle. Pokud jsou navíc do směsi přidány $-\text{COOH}$ i $-\text{NH}_2$ složky, kromě aktivace probíhá i mnohem pomalejší vedlejší reakce karbodiimidu s volnou $-\text{NH}_2$ skupinou molekuly druhé látky za vzniku nereaktivního (a tedy nežádoucího) vedlejšího produktu, derivátu guanidinu (obr. 5, cit.³⁹). Nukleofilní atom dusíku na *O*-acylisomočovinně může také soutěžit o acylový zbytek, což vede k isomerizaci a vzniku minoritního podílu nežá-

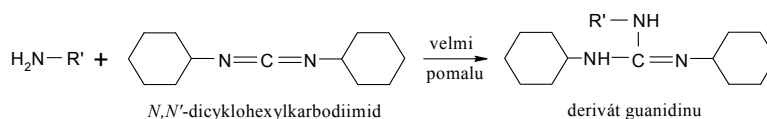
doucího nereaktivního vedlejšího produktu, *N*-acylmočoviny (obr. 6).

Tvorbu *N*-acylmočoviny (stejně jako i racemizaci) lze potlačit přidávkem hydroxybenzotriazolů⁴⁷, např. HOBt (obr. 7a) nebo 1-hydroxy-7-azabenzotriazolu (HOAt; obr. 7b). $\text{O} \rightarrow \text{N}$ acylový posun v „isomočovinně“ je přitom potlačen nukleofilním útokem HOBt na karbonylový uhlík acylu a následným vznikem aktivního (HOBt) esteru karboxylové kyseliny.

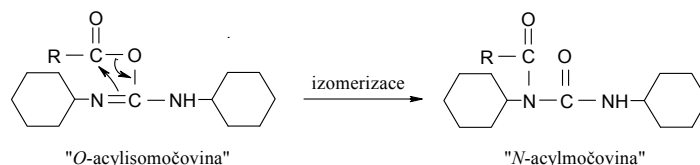
Reakční složky mohou být přidávány do reakční směsi buď současně, nebo postupně, tj. teprve po proběhnutí aktivace $-\text{COOH}$ skupiny, např. pomocí karbodiimidu. V prvním případě vzniká cyklický meziprodukt (obr. 8), zatímco ve druhém dochází nejprve ke vzniku *O*-acylisomočoviny, ze které teprve po přidávku HOBt vzniká ester, *O*-acyl-1-hydroxybenzotriazol (obr. 9).

Estery 1-hydroxybenzotriazolu jsou extrémně silnými acylačními činidly⁴⁷. Jejich reaktivita zřejmě souvisí s existencí již zmiňovaného cyklického intermediátu tvořeného $-\text{NH}_2$ skupinou, acylem a dusíkovými atomy HOBt. Výsledkem této interakce je tvorba amidové vazby a regenerace hydroxybenzotriazolu (obr. 8).

Hydroxybenzotriazoly mohou ovšem reagovat i bez přítomnosti karbodiimidů. Meziproduktem jsou pak jejich

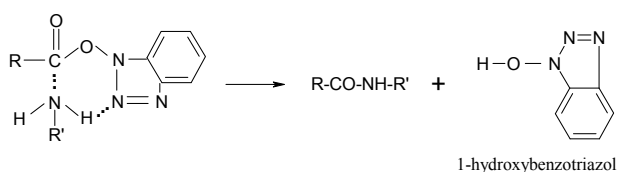


Obr. 5. Tvorba vedlejšího produktu, derivátu guanidinu

Obr. 6. Tvorba „*N*-acylmočoviny“



Obr. 7. a) HOBt, 1-hydroxybenzotriazol,
b) HOAt, 1-hydroxy-7-azabenzotriazol



Obr. 8. Tvorba amidové vazby cestou cyklického meziproduktu

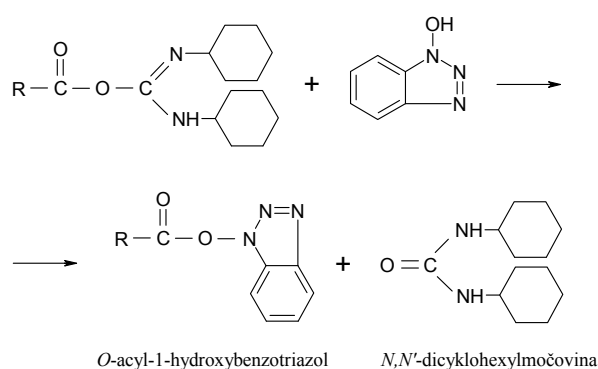
estery, které po reakci s aminoskupinami iniciují tvorbu amidové vazby mezi oběma složkami reakční směsi a podobně jako v předchozím případě regeneraci původního hydroxybenzotriazolu (obr. 10).

Výše uvedený způsob imobilizace byl použit⁴² u syntetických brassinosteroidů s volnou karboxyskupinou na bočním řetězci (např. u analogu odvozeného od kyseliny bisnorcholanové; obr. 11a), resp. s toutéž skupinou na modifikovaném B-kruhu steranového cyklu (např. u karboxymethyloximového derivátu 24-epikasteronu; obr. 11b). Vzhledem k přítomnosti jedině -COOH skupiny v molekulách těchto látek se vždy jednalo o imobilizaci orientovanou. Pokud by však těchto skupin bylo zastoupeno více, imobilizace by vedla ke vzniku směsi dvou a více esterů^{33,48} a tedy k přípravě nosiče schopného interakce s bílkoviny o odlišné struktuře vazebného místa. Tím lze sice dosáhnout zachycení většího počtu bílkovin s afinitou k použitému ligandu, avšak s nižším výtěžkem.

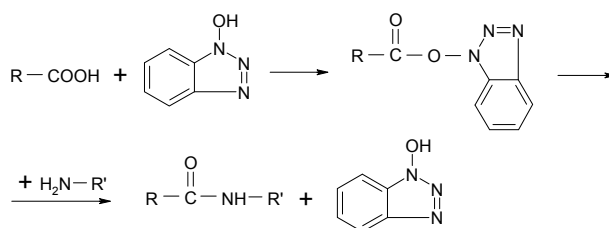
3.1.1.2. Tvorba esterové vazby

Při imobilizaci ligandu s volnými -OH skupinami na polymerní matici s -COOH skupinami dochází k vytvoření esterové vazby. Podobně jako v předchozím případě, tak i v tomto je prvním krokem aktivace -COOH skupiny. Aktivačním činidlem je opět HOBt, ale kromě něho se do reakční směsi přidává 4-(*N,N*-dimethylamino)pyridin (DMAP), který slouží jako katalyzátor aktivace a současně i jako supresor tvorby *N*-acylmočoviny. Dalším krokem je již samotná esterifikace, která bývá iniciována vhodným dehydratačním činidlem, např. DIC.

Tohoto způsobu imobilizace se využívá hlavně u ligandů s volnými -OH skupinami. Jak BR tak ES mají ve svých molekulách těchto skupin hned několik. Proto v těchto případech nedochází ke vzniku jedné sloučeniny, ale směsi dvou a více esterů. Příkladem takto navazované-



Obr. 9. Reakce *O*-acylisouřoviny s 1-hydroxybenzotriazolem



Obr. 10. Tvorba amidové vazby a regenerace 1-hydroxybenzotriazolu

ho ligandu může být např. 24-epibrassinolid se čtyřmi -OH skupinami (obr. 1b) nebo 20-hydroxyekdyson se šesti -OH skupinami (obr. 2b).

3.2. Izolace a identifikace vazebných bílkovin

Jak již bylo naznačeno výše, při afinitní chromatografii směsi bílkovin získaných z rostlinného materiálu jsou bílkoviny děleny na základě schopnosti interakce s ligandy navázanými na polymerní matici. Zatímco bílkoviny s vysokou afinitou k těmto ligandům (vazebné bílkoviny) zůstávají na nosičích zachyceny (adsorbovány) a musejí z nich být posléze uvolněny, bílkoviny s nízkou až nulovou afinitou (balastní bílkoviny) těmito sorbenty zadržovány nejsou a odcházejí pryč.

K extrakci bílkovin z rostlinného materiálu, resp. k získání jejich cytosolické frakce a k následné ekvilibraci kolon, byl využíván 0,05M fosfátový pufr, pH 7 (pro účely extrakce navíc s přidavkem inhibitorů proteas a merkapt ethanolu pro zabránění nežádoucí oxidace), pro odmývání případných nespecificky navázaných bílkovin ze sorbentu s imobilizovanými steroidními ligandy pak kontinuálních gradientů roztoků NaCl o koncentraci v rozmezí 0 až 0,5M. Samotná eluce pak probíhala působením 3% (v/v) roztoku kyseliny octové, 8M močoviny jakožto chaotropního činidla či pomocí kompetujících ligandů.

4. Bílkoviny s afinitou k vybraným rostlinným oxysterolům

4.1. Vazebné bílkoviny brassinosteroidů

První bílkovinou se vztahem k brassinosteroidům, kterou se výše uvedeným způsobem podařilo izolovat a poté identifikovat⁴², byl tzv. osmotin-like protein prekursor (OLPA). Výchozím materiálem byl v tomto případě třítydenní kalus tabáku viržinského (*Nicotiana tabacum* var. *Wisconsin 38*) a ligandem navázaným na polymerní matici karboxymethyloximový derivát 24-epikastasteronu (obr. 11b).

O bílkovině OLPA je známo, že patří mezi tzv. PR (z angl. pathogenesis-related) proteiny, jejichž syntéza je podle literatury indukována různými stresovými faktory, ať už biotickými, tak abiotickými. OLPA je pak nejčastěji diskutována v souvislosti s adaptací rostliny na stres způsobený suchem, zasolením půdy, požerem rostliny býložravým živočichem, příp. napadením rostliny patogenním mikroorganismem (*Candida albicans*, *Fusarium oxysporum* či *Trichoderma reesei*)^{49,50}. Vzhledem k faktu, že i samotné brassinosteroidy jsou spojovány s potlačením odezvy rostliny na stres^{1,2}, nabízí se jakási vzájemná spojitost OLPA a BR. Zda je tomu však i ve skutečnosti a případně jak přesně k interakci těchto dvou látek dochází, bude nutné ještě objasnit.

Další z bílkovin, která byla identifikována coby interagující s BR, je ribulosa-1,5-bisfosfátkarboxylasa/oxidasa neboli RuBisCO, klíčový enzym Calvinova cyklu temnostní fáze fotosyntézy. Pokusným materiálem byly v tomto případě jednak listy špenátu novozélandského (*Tetragonia tetragonioides*) a jednak olistěné stonky lnu

setého (*Linum usitatissimum* var. *Venica*); ligandem navázaným na polymerní matici byl opět karboxymethyloximový derivát 24-epikastasteronu⁵¹.

Význam enzymu RuBisCO pro rostliny spočívá ve schopnosti fixovat a poté zabudovávat vzdušný CO₂ do struktury organických molekul, tj. karboxylací. Dochází přitom k přeměně ribulosa-1,5-bisfosfátu na 3-fosfoglycerát a jeho redukci na glycerinaldehyd-3-fosfát, který pak slouží jako výchozí látka pro tvorbu sacharosy, škrobu a dalších sloučenin^{52,53}. Jak jsou však do tohoto, příp. jiného souvisejícího procesu zapojeny brassinosteroidy, dosud známo není a je to předmětem našich dalších výzkumů.

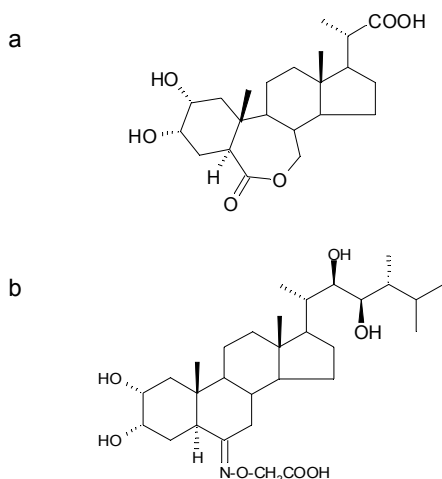
4.2. Vazebné bílkoviny ekdysteroidů

Podobně jako je tomu u BR, také informace o vazebných bílkovinách ES z rostlin jsou velmi strohé a jedinou bílkovinou, kterou lze prozatím dávat do souvislosti s vazbou k ekdysteroidům, je již výše zmiňovaný enzym RuBisCO (cit.⁴³), který byl izolován opět ze špenátu novozélandského (*Tetragonia tetragonioides*), tentokrát však pomocí afinitního nosiče s navázaným 20-hydroxyekdysonem (obr. 2b). Ani v tomto případě však není o mechanismu interakce RuBisCO a ekdysteroidů známo téměř nic. Z výsledků Uhlík a spol.⁴³ sice vyplývá, že některé ekdysteroidní látky mohou podstatně (až o 13 %) zvyšovat aktivitu tohoto enzymu, což se do budoucna může jevit jako jedna z možností, jak docílit snížení přebytků CO₂ v ovzduší nebo zajištění dostatku biomasy pro energetické či potravinové účely, ale jak přesně k danému ovlivnění dochází, zřejmě není a daná problematika tak zůstává opět předmětem dalšího bádání.

5. Závěr

Jak bylo uvedeno výše, s využitím afinitní chromatografie bylo izolováno a pomocí následných analýz také identifikováno několik bílkovin se vztahem k rostlinným brassinosteroidům a ekdysteroidům. První výsledky sice naznačují spjitost BR, resp. ES a jedné z těchto bílkovin – enzymu RuBisCO – ve smyslu zvýšení její aktivity, jak a zda vůbec to souvisí se samotným mechanismem účinku BR, o jehož objasnění nám šlo především, však prozatím známo není. Podobně je tomu i s druhou bílkovinou, kterou se nám podařilo výše uvedeným způsobem získat a identifikovat, tedy PR-proteinem OLPA. Souvislost s BR vzhledem k podobným účinkům na stresované rostliny se sama přímo nabízí, ale vysvětlení „jak a proč“, bohužel, také stále chybí a nezbyvá než danou problematiku podrobit ještě dalšímu studiu.

Tato práce vznikla v rámci řešení projektů IM06030 a Z40550506.



Obr. 11. Příklady analogů odvozených od přirozeně se vyskytujících brassinosteroidů a používaných k imobilizaci na polymerní matici. a) Brassinosteroid odvozený od kyseliny bisnorcholanové, b) karboxymethyloximový derivát 24-epikastasteronu

LITERATURA

1. Khripach V. A., Zhabinskii V. N., Ae de Groot: *Brassinosteroids – A New Class of Plant Hormones*. Academic Press, Město 1999.
2. Zinov'eva S. V., Udalova Z. V., Vasil'eva I. S., Vanyushkin S. A., Paseshnichenko V. A.: *Appl. Biochem. Microbiol.* 37, 456 (2001).
3. Bergamasco R., Horn D. H. S., v knize: *Invertebrate Endocrinology, Vol. 1 – Endocrinology of Insects* (Downer R. G. H., Laufer H., ed.). Liss, New York 1983.
4. Harmatha J., Dinan L.: *Phytochem. Rev.* 2, 321 (2003).
5. Thummel C. S., Chory J.: *Genes Dev.* 16, 3113 (2002).
6. Szekeres M., Nemeth K., Koncz-Kálman Z., Mathur J., Kauschmann A., Altmann T., Rédei G. P., Nagy F., Schell J., Koncz C.: *Cell* 85, 171 (1996).
7. Kinoshita T., Caño-Delgado A., Seto H., Hiranuma S., Fujioka S., Yoshida S., Chory J.: *Nature* 433, 167 (2005).
8. Müssig C., Altmann T.: *Trends Endocrin. Met.* 12, 398 (2001).
9. Noguchi T., Fujioka S., Choe S., Takatsuto S., Yoshida S., Yuan H., Feldmann K. A., Tax F. E.: *Plant Physiol.* 121, 743 (1999).
10. Yokota T.: *Trends Plant Sci.* 2, 137 (1997).
11. Anniss A. M., Apostolopoulos J., Dworkin S., Purton L. E., Sparrow R. L.: *DNA Cell Biol.* 21, 571 (2002).
12. Dawson P. A., Ridgway N. D., Slaughter C. A., Brown M. S., Goldstein J. L.: *J. Biol. Chem.* 264, 16 798 (1989).
13. Skirpan A. L., Dowd P. E., Sijacic P., Jaworski C. J., Gilroy S., Kao T. H.: *Plant Mol. Biol.* 61, 553 (2006).
14. Katzenellenbogen J. A., Katzenellenbogen B. S., v knize: *Vitamines and Hormones – Advances in Research and Applications, Vol. 41*. (McCormick D. B., ed.). Academic Press, Město 1984. Dostupné z: <http://books.google.cz/books?id=0Gs-vWD3buAC&printsec=frontcover&source=gbs_v2_summary_r&cad=0#v=onepage&q=&f=false>.
15. Kubíčková B., Hodek P.: *Chem. Listy* 95, 359 (2001).
16. Kolbe A., Schneider B., Voigt B., Adam G.: *J. Label. Compd. Radiopharm.* 16, 131 (1998).
17. Yang X-H., Xu Z-H., Xue H-W.: *Plant Cell* 17, 116 (2004).
18. Scheer J. M., Ryan C. A.: *Plant Cell* 11, 1525 (1999).
19. Griffith E. C., Licitra E. J., Liu J.: *Methods Enzymol.* 328, 89 (2000).
20. Licitra E. J., Liu J. O.: *PNAS* 93, 12817 (1996).
21. Bogoeva V. P., Russev G. C.: *Steroids* 73, 1060 (2008).
22. Hübsch N. D., Mooney D. J.: *Biomaterials* 28, 2424 (2007).
23. Christie W. W.: Sterols 2. Oxysterols, bile acids and cholesterol sulfate – structure, occurrence and biochemistry [online]. Staženo 12. září 2009. Dostupné z: <http://www.lipidlibrary.co.uk/Lipids/chol_der/file.pdf>.
24. Zullo M. A. T.: The Brassinosteroids Page [online]. 1997, staženo 29. října 2008. Dostupné z: <<http://members.tripod.com/~mzullo>>.
25. Guardiola F.: *Reprod. Nutr. Dev.* 44, 597 (2004).
26. Guardiola F., Dutta P. C., Codony R., Savage G. P.: *Cholesterol and Phytosterol Oxidation Products – Analysis, Occurrence, and Biological Effects*. AOCS Press, Urbana 2002. Dostupné z: <http://books.google.cz/books?id=HVdKHweLhZAC&printsec=frontcover&source=gbs_v2_summary_r&cad=0>.
27. Lütjohann D.: *Br. J. Nutr.* 91, 3 (2004).
28. Lafont R., Harmatha J., Marion-Poll F., Dinan L. and Wilson I. D.: *Ecdybase – The Ecdysone Handbook*. 3. vydání [online]. 2002, staženo červen 2009. Dostupné z: <<http://ecdysbase.org>>.
29. Vert G., Nemhauser J. L., Geldner N., Hong F., Chory J.: *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 21, 177 (2005).
30. Jizba J., Herout V., Šorm F.: *Tetrahedron Lett.* 18, 1689 (1967).
31. Macek T., Vaněk T.: *Biotechnol. Agr. Forest.* 26, 299 (1994).
32. Soriano I. R., Riley I. T., Potter M., Bowers W. S.: *J. Chem. Ecol.* 30, 1885 (2004).
33. Amersham Biosciences: *Affinity Chromatography – Principles and Methods* [online]. Staženo 20. 7. 2009. Dostupné z: <[https://www.chromatography.amershambiosciences.com/aptrix/upp00919.nsf/Content/91D3DF5DE303E8B6C1256EB400417F34/\\$file/18102229AE.pdf](https://www.chromatography.amershambiosciences.com/aptrix/upp00919.nsf/Content/91D3DF5DE303E8B6C1256EB400417F34/$file/18102229AE.pdf)>.
34. Iontosorb: *Afinitní chromatografie* [online]. Staženo 1. 1. 2008. Dostupné z: <http://www.iontosorb.cz/cz/afi_chro.htm>.
35. Bio-Rad: *BioLogic LP Chromatography System – Instruction Manual*. Staženo 20. července 2009. Dostupné z: <http://www3.bio-rad.com/cm_upload/Literature/58931/4006072D.pdf>.
36. Stark M., Holmberg K.: *Biotech. Bioeng.* 34, 942 (1989).
37. Merrifield R. B.: *J. Am. Chem. Soc.* 85, 2149 (1963).
38. Bodanszky M.: *Peptides* 1, 105 (1979).
39. Bodanszky M.: *Peptide Chemistry – A Practical Text Book*. 2. vydání. Telos/Springer-Verlag, Emeryville 1993.
40. Bodanszky M., Bodanszky A.: *The Practice of Peptide Synthesis*. Springer-Verlag, Berlin 1984.
41. Routledge A., Abell C., Balasubramanian S.: *Synlett*. 1, 61 (1997).
42. Kamlar M., Macek T., Koncz C., Kohout L.: *Eur. J. Biochem.* 271(S1), 113 (2004).
43. Uhlík O., Kamlar M., Kohout L., Ježek R., Harmatha J., Macek T.: *Steroids* 73, 1433 (2008).
44. Benoiton N. L.: *Chemistry of Peptide Synthesis*. CRC Press, 2005. Dostupné z: <<http://books.google.cz/books?id=minqbLmBjxkC&printsec>>.

- =frontcover&source=gbs_v2_summary_r&cad=0>.
45. Bodanszky M., Bednarek M. A.: *J. Protein Chem.* 8, 461 (1989).
 46. Chan W. C., White P. D.: *Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis – A Practical Approach*. Oxford University Press, Oxford 2000. Dostupné z: <http://books.google.cz/books?id=l5IPqfBWPXcC&printsec=frontcover&source=gbs_navlinks_s>.
 47. König W., Geiger R.: *Chem. Ber.* 103, 788 (1970).
 48. Marquart A.: *Immobilization Techniques*. Staženo 20. července 2009. Dostupné z: <<http://www.sprpages.nl/Downloads/PDFfiles/Immobilization.pdf>>.
 49. Capelli N., Diogon T., Greppin H., Simon P.: *Gene* 191, 51 (1997).
 50. Shih C-Y. T., Wu J., Jia S., Khan A. A., Ting K-L. H., Shih D. S.: *Plant Sci.* 160, 817 (2001).
 51. Kamlar M., Uhlík O., Kohout L., Šanda M., Macek T.: *FEBS Lett.* 276(S1), 237 (2009).
 52. Malkin R., Niyogi K., v knize: *Biochemistry and Molecular Biology of Plants* (Buchanan B. B., Gruissem W., Jones R. L., ed.). ASPB, Rockville 2000.
 53. Raghavendra A. S., v knize: *Encyclopedia of Applied Plant Science* (Thomas B., Murphy D. J., Murray B. G., ed.). Elsevier, Oxford 2003.

M. Kamlar^{a,b}, O. Uhlík^{a,b}, I. Chlubnová^b, L. Kohout^a, J. Harmatha^a, M. Šanda^{a,b}, R. Ježek^a, A. Pišvejcová^a, and T. Macek^{a,b} (^a *Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*, ^b *Department of Biochemistry and Microbiology, Institute of Chemical Technology, Prague*): **Affinity Chromatography as a Method of Studying the Mechanism of Action of Plant Oxysterols**

In plants, oxysterols brassinosteroids (BR) and ecdysteroids (ES) can be found. BR act as plant hormones with a positive effect on growth, stress tolerance or senescence. Their mechanism of action is based on signal transduction via a membrane receptor cascade, with or without assistance of oxysterol-binding proteins. The role of ES as insect hormones in plants is unknown. ES are likely to show an antifeedant effect on herbivorous pests, but other as yet unknown roles in plants are not excluded. A range of affinity carriers with immobilized synthetic analogues of plant BS and ES were prepared. Using these carriers, some proteins with affinity to the oxysterols were separated from cytosol extracts of plants. The proteins were assessed by electrophoresis and identified by sequencing. One of them is an osmotin-like protein precursor known as a pathogenesis-related protein. Another protein, RuBisCO, is known as the key enzyme in the Calvin cycle of the dark phase of photosynthesis. The interactions of these proteins with the oxysterols remain unclear.

MOŽNOSTI KOMBINÁCIE METÓD KVAPALINOVEJ CHROMATOGRAFIE A ATÓMOVEJ SPEKTROMETRIE NA ŠPECIÁCIU PRVKOV

RADOSLAV HALKO, TIBOR NEUROČNÝ
a MILAN HUTTA

Katedra analytickej chémie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Mlynská dolina, CH-2, 842 15 Bratislava, Slovensko

halko@fns.uniba.sk, hutta@fns.uniba.sk

Došlo 22.1.09, prijaté 4.6.09.

Kľúčové slová: kvapalinová chromatografia, atómová spektrometria, kombinácia, chemická analýza, špeciácia

Obsah

1. Úvod
2. Všeobecné problémy spájania metód kvapalinovej chromatografie a atómovej spektrometrie
 - 2.1. Plameňová atomizácia
 - 2.2. Atomizácia s využitím indukčne viazanej plazmy
 - 2.3. Elektrotermická atomizácia
3. Rozhrania pre rôzne detektory atómovej spektrometrie
 - 3.1. Zhmlovače
 - 3.2. Generácia hydridov
 - 3.3. Spreje
4. Využitie rôznych techník kvapalinovej chromatografie v spojení s atómovou spektrometriou
5. Záver

1. Úvod

Vzhľadom na rozdielne chemické formy prvkov v látkach a ich rozdielne environmentálne správanie sa, ako aj ich rozdielny metabolizmus a účinok na živé organizmy, je v súčasnosti nevyhnutné a stále aktuálne poznať okrem celkového obsahu toxického prvku vo vzorke aj obsah jednotlivých foriem látok, v ktorých sa prvky nachádzajú, t.j. robiť špeciáciu. Špeciácia nie je presne definovaná a rôzni autori si ju vysvetľujú rôzne. Florence¹ špeciálnu analýzu definuje ako stanovenie koncentrácie jednotlivých fyzikálno-chemických foriem prvku, ktorých súčet tvorí celkovú koncentráciu prvku vo vzorke. Na druhej strane Ure a Davidson² definujú špeciáciu ako proces identifikácie a kvantifikácie rozdielnych, definovaných špecií, foriem a fáz prítomných v látke. Templeton a spol.³ definujú špeciáciu ako analytické aktivity vedúce k identifikovaniu a/alebo meraniu kvantitatívneho zastúpenia jednej resp. viacerých individuálnych chemických

špecií vo vzorke. Podľa IUPAC môžeme túto definíciu považovať za oficiálnu definíciu.

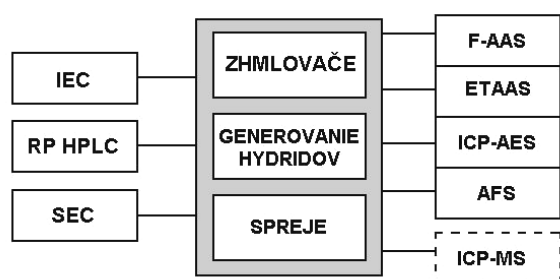
Nízke koncentračné úrovne (ng ml^{-1}) obsahu toxických prvkov a ich špecií v biologických vzorkách a vo vzorkách životného prostredia nás nútia kombinovať také techniky pre špeciáciu prvkov, ktoré umožňujú ich izoláciu pred ich stanovením citlivými a selektívnymi detekčnými systémami. Všeobecne sa spájanie dvoch resp. viacerých nezávislých analytických techník využíva v tom prípade, keď nie je možné získať potrebnú analytickú informáciu jednoduchou analytickou metódou. V prípade LC to môže byť jej off-line resp. on-line kombinácia s detekčnými technikami atómovej spektrometrie, ako napr. atómovej absorpčnej (AAS), emisnej (AES) a fluorescenčnej (AFS)⁴ spektrometrie. Aj keď je publikovaných viacero úspešných aplikácií na prepojenie LC s MS detektorom, v tejto práci sa budeme venovať len spomenutým metódam atómovej spektrometrie. Spojením kvapalinovej chromatografie s metódami atómovej spektrometrie možno kompenzovať identifikačné obmedzenia bežnej kvapalinovo-chromatografickej analýzy. Zároveň to umožňuje eliminovať niektoré problémy, ktoré sa vyskytujú v samotnej detekčnej technike atómovej spektrometrie pri analýze reálnych vzoriek, napríklad nízke citlivosti pre niektoré prvky, vplyv matrice, spektrálne interferencie stanovovaných prvkov resp. viacprvkovú ultrastopovú analýzu⁵.

Hlavným problémom spájania týchto dvoch techník je vytvorenie vhodného rozhrania (angl. interface) medzi kombinovanými technikami. Týka sa to hlavne kvantitatívneho prenosu eluovaných pík z chromatografického systému do systému atómovej spektrometrie, nekompatibilitou spájaných systémov danou napríklad zložením použitých mobilných fáz⁶ a ich rôznou prietokovou rýchlosťou.

Aj keď myšlienka spájania týchto dvoch techník nie je najmladšia a v praxi sa už niekoľko rokov používajú komerčne vyrobené prístroje, stále je v tejto oblasti veľa nezodpovedaných otázok. Do úvahy treba zobrať aj fakt, že na každom väčšom analytickom pracovisku sa nachádzajú chromatografické a atómospektrometrické prístroje, ktoré sú využívané v prevažnej miere samostatne a nezávisle. Využitie vhodnej kombinácie týchto dvoch techník môže úspešne vyriešiť analytické problémy, hlavne pri špeciácii prvkov v rôznych typoch vzoriek.

Tento prehľadový článok stručne popisuje možnosti kombinácie kvapalinovej chromatografie s rôznymi technikami atómovej spektrometrie, a to hlavne z pohľadu využitia rôznych typov rozhraní používaných na prepojenie spomenutých techník. Na obr. 1. je znázornená schéma prepojenia študovaných techník cez rôzne rozhrania.

V práci sú tiež diskutované problémy a výhody prepojenia študovaných techník z pohľadu použitého spojovacieho rozhrania. Sú v nej uvedené vybrané príklady



Obr. 1. Schéma prepojenia metód kvapalinovej chromatografie s metódami atómovej spektrometrie použitím rôznych rozhraní

pokrývajúce hlavne obdobie posledných 10 rokov použitia off-line resp. on-line kombinácie kvapalinovej chromatografie a atómovej spektrometrie na špeciáciu prvkov a ich organických zlúčenín prítomných v biologických a environmentálnych maticiach.

2. Všeobecné problémy spájania metód kvapalinovej chromatografie a atómovej spektrometrie

Kombinácia LC s rôznymi detektormi atómovej spektrometrie vytvára veľmi silný nástroj pre špeciálnu analýzu. V podstate ide o kombináciu vysokoúčinnnej separačnej techniky s citlivými a selektívnymi detekčnými technikami. Vzhľadom na to, že separácia foriem kovov, ak nepočítame s ich prirodzenými organickými formami, väčšinou

prebieha vo forme neprchavých organokovových komplexov, LC sa v porovnaní s ďalšou chromatografickou technikou GC využíva pre daný typ analýzy častejšie. V prípade GC sa totiž musia neprchavé zlúčeniny derivatizovať pred ich stanovením, čo zvyšuje riziko ich kontaminácie⁷.

Kombinácia LC s detektormi atómovej spektrometrie sa využíva nielen, ako už bolo uvedené, na špeciálnu analýzu prvkov, ale aj na elimináciu interferencií pochádzajúcich z rôznych typov matric. Pri kombinovaní LC a atómovej spektrometrie sa využívajú off-line a on-line prepojenia.

Prvý všeobecný prehľad kombinácie LC a atómovej spektrometrie bol publikovaný v 80. rokoch minulého storočia⁸. V danom čase boli kombinácie študovaných metód realizované buď off-line prenosom zozbieraných frakcií z chromatografickej kolóny do grafitovej kvety alebo priamym napojením konca kapiláry chromatografickej kolóny do dávkovacieho zariadenia plameňového atomizátora.

Off-line technika v porovnaní s on-line technikou je dobrou alternatívou pre spracovanie menšieho počtu vzoriek. Vyžaduje si jednoduchšie prístrojové zariadenie, avšak zlú reprodukovateľnosť manuálnej obsluhy, napríklad spojená s nesprávnym označením vzoriek (zmenou vzoriek v sekvencii) a príliš širokým časovým intervalom medzi zberom jednotlivých frakcií, môže nepriaznivo pôsobiť na spoľahlivosť daného procesu. Pri použití off-line metód na rozdiel od použitia on-line prepojenia, je zároveň zvýšené riziko kontaminácie vzorky a možných strát analytov.

Pri on-line prepojení LC s atómovou spektrometriou je chromatografická kolóna priamo prepojená s atómovým

Tabuľka I

Vybrané aplikácie LC a atómovej spektrometrie pre špeciáciu prvkov

Analyty	Matrica	Technika	LOD ^a	Lit.
As(III), As(V)	prachové častice	IEC-HG-AFS	0,01–0,02 ng m ⁻³	50
As(III), As(V), MMA, DMA	moč	RP-LC-HG-ICP-AES	36–101 ng ml ⁻¹ ^b	51
As(III), As(V)	voda	IEC-HG-ETAAS	7,8–12 ng ml ⁻¹	34
Se(IV), Se(VI), SeMet, SeMeSeCyS, SeCys	rastlinný materiál	IEC-UV-HG-AFS	2–10 ng g ⁻¹	65
Se(IV), Se(VI)	voda	IEC-HG-ETAAS	2,4–18,6 ng ml ⁻¹	34
SeMet, SeEt, SeCys	biologické vzorky	RP-LC-ICP-AES	2–6 ng ml ⁻¹	40
Sb(V), Sb(III), (CH ₃) ₃ SbCl ₂	morská voda	IEC-HG-AFS	0,07–0,13 ng ml ⁻¹	55
Hg(II), MeHg ⁺ , PhHg ⁺ , EtHg ⁺	vzorky rýb	RP-LC-CV-AFS	0,06–0,2 ng ml ⁻¹	16
Cr(III), Cr(IV)	voda	RP-LC-F-AAS	2,0–3,7 ng ml ⁻¹	10
Špécie železa	mlieko	SEC-ETAAS	1,4–4,7 ng ml ⁻¹	80

^a Medza stanovitelnosti; ^b medza dokázateľnosti; MMA – kyselina monometylarzeničná; DMA – kyselina dimetylarzeničná; SeMet – selenometionín; SeMeSeCyS – selenometylselenocystín; SeCys – selenocystín; SeEt – selenoetionín; MeHg⁺ – metylhydrargyrium; PhHg⁺ – fenylhydrargyrium; EtHg⁺ – etylhydrargyrium

spektrometrom cez určité rozhranie v jedinom analytickom systéme. Významným aspektom technickej realizácie on-line prepojenia je možnosť automatizácie, ktorá predstavuje veľkú výhodu v procese analýzy. Automatizácia dovoľuje analýzu väčšieho počtu vzoriek, znižuje náklady, skracuje čas požadovaný pre analýzu v porovnaní s off-line metódami.

V našej práci sa zameriame prevažne na on-line kombináciu prezentovaných techník. Všeobecné problémy vyskytujúce sa pri on-line prepojení môžeme zhrnúť do dvoch hlavných okruhov problémov a to: 1) nekompatibilita rýchlosti prietokov a 2) nekompatibilita zložiek eluentov používaných v jednotlivých technikách. Možné riešenia spomenutých problémov formou rôznych rozhraní budú podrobnejšie prezentované v kapitole 3.

2.1. Plameňová atomizácia

Plameňová technika atomizácie analytov patrí medzi najčastejšie využívané techniky atomizácie v AAS ako aj v AFS, kde sa využívajú hlavne laminárne predmiešané plamene. Pre zavedenie kvapalnej vzorky do plameňa sa najčastejšie používajú pneumatické zhmlovače. Typické prietoky eluentu ($\approx 5 \text{ ml min}^{-1}$) požadované pre pneumatické zhmlovače majú v priemere dvakrát až trikrát vyššie hodnoty ako sú hodnoty bežných prietokových rýchlostí mobilných fáz v LC ($0,5\text{--}2,0 \text{ ml min}^{-1}$). Tento nesúlad môže viesť ku zníženiu citlivosti detekcie a zhoršeniu rozlíšenia, lebo analyt eluujúci z chromatografickej kolóny je rozmyvaný a zároveň veľmi zriedený spaľovacími resp. nosnými plynnými počas jeho prenosu do plameňa (200–400krát). Účinnosť vnesenia analytu do plameňového atomizátora je obyčajne len okolo 5 až 10 % (cit.⁹). Výsledkom sú potom nízke koncentračné úrovne analytov pozdĺž optickej osi spektrometra, a preto sa musia robiť určité kompromisy v jednej alebo zároveň v oboch použitých technikách^{10,11}.

Z hľadiska zloženia mobilných fáz (zahrňujúcich organické rozpúšťadlá resp. soli tlmivých roztokov) je plameňová atomizácia viac-menej tolerantná technika, ale má tiež určité obmedzenia. Akceptované môžu byť napríklad ešte mobilné fázy obsahujúce koncentráciu solí tlmivých roztokov do 50 mmol l^{-1} . Vyššia koncentrácia solí však už môže spôsobovať nestabilitu plameňa. Podrobnejšie sa problematike organických analytických činidiel použitých v AAS venuje práca publikovaná Sommerom a spol.¹²

Všetky tieto nedostatky plameňovej atomizácie pre on-line kombináciu LC-AAS resp. LC-AFS, ako sú napríklad už spomenutá slabá účinnosť zhmlovania, nekompatibilita prietokových rýchlostí eluentov, rušivé vplyvy vnášania a vyparovania vzorky, boli viac či menej úspešne eliminované rôznymi modifikáciami tejto techniky. Najčastejšie používanou alternatívou je využitie techniky generovania hydridov (HG, hydride generation) pre AAS (HG-AAS)^{13–15} resp. AFS (HG-AFS)¹⁶. Medzi ďalšie techniky môžeme zaradiť techniku studených pár (CV, cold vapor)¹⁷, prietokovú injekčnú analýzu (FIA, flow injection analy-

sis)¹⁸, hydraulický vysokotlakový zhmlovač (HHPN, hydraulic high pressure nebulizer)¹⁹ a ultrazvukový zhmlovač (USN, ultrasonic nebulizer)²⁰.

2.2. Indukčne viazaná plazma

Pri využití AES detektorov s indukčne viazanou plazmou (AES-ICP) v spojení s LC, na rozdiel od atómových detektorov s plameňovými atomizátormi, sú prietokové rýchlosti eluentov v oboch technikách navzájom kompatibilné. Avšak pri použití priameho spojenia s pneumatickým zhmlovačom sa aj pri indukčne viazanej plazme (ICP) stretávame s nízkou účinnosťou (okolo 1 až 5 %) vnesenia kvapalnej vzorky vo forme aerosólu do plazmy. Výsledkom sú potom relatívne vysoké hodnoty medze stanoviteľnosti²¹.

V ICP technikách môže mať prítomnosť organických rozpúšťadiel (metanol, acetonitril), bežne používaných ako zložky mobilných fáz v LC, negatívny vplyv na stabilitu plazmy. Ich prítomnosť v eluente je tiež zodpovedná za usadzovanie uhlíka na kremenných trubiciach plazmovej hlavice a dávkovacieho kužela¹². Dôsledkom je potom zvýšená hladina šumu a kolísanie odozvy detektora. Vysokofrekvenčná energia pomáha čiastočne redukovať vplyv usadzovania organických zložiek rozpúšťadla v priestoroch plazmovej trubice, zatiaľ čo použitie chladených sprejových komôr limituje objem vypareného rozpúšťadla prichádzajúceho do plazmy²². Pridanie desolvatačnej jednotky ako aj použitie mikrokolónovej LC tiež môže riešiť problém s koncentráciou metanolu bežne používanou v LC. Ďalším riešením problému ukladania uhlíka je prídavok kyslíka (1–3 %, v/v) do prúdu nosného plynu v zhmlovači, avšak na úkor životnosti plazmovej hlavice. Aj prítomnosť solí v eluente môže spôsobovať krátkodobý zostupný alebo vzostupný signál. Ich vyzrážaním tiež často dochádza k zapchatiu zhmlovača a dávkovacieho zariadenia^{5,23,24}.

Možným riešením kvantitatívneho transportu LC eluentu do ICP je použitie účinejších zhmlovačov: priamych dávkovacích zhmlovačov (DIN, direct injection nebulizer)²⁵ resp. USN²⁶, alebo iných typov rozhraní – elektrosprej s ICP²⁷ resp. HG s ICP²⁸.

2.3. Elektrotermická atomizácia

AAS s elektrotermickou atomizáciou (ETAAS) je všeobecne vysokocitlivá detekčná metóda pre malé objemy vzorky (10–50 μl), ale sekvenčná povaha jednotlivých krokov pri atomizácii (sušenie, pyrolýza, atomizácia) môže skomplikovať on-line prepojenie s LC. Najstarším a najjednoduchším postupom je off-line zber jednotlivých frakcií z LC systému²⁹. Systém off-line kombinácie LC a ETAAS, založený na zbere frakcií, neposkytuje analýzu v reálnom čase a zároveň je problematická tiež optimalizácia experimentálnych parametrov. Tento problém môžu vyriešiť automatizované rozhrania využívajúce riadenie počítačom, ktoré sú efektívne pre on-line prepojenie hlavne z dôvodu možnosti zberu údajov v reálnom čase.

Touto metódou sa nedá dosiahnuť kontinuálny signál, ale výsledkom sú diskrétny signály. Vzorkovacia rýchlosť je potom závislá od rýchlosti merania, t.j. meracieho intervalu ETAAS. S dlhším časom trvania tohto kroku analýzy je pozorované rozširovanie chromatografických pík. Pre zvýšenie priepustnosti vzoriek systémom je vzorkovací proces modifikovaný dočasným zadržaním chromatografických pík, čo vedie k možnosti analýzy viaczložkovej zmesi organokovových zlúčenín toho istého kovu, ako aj viacprvkových viaczložkových zmesí. Na druhej strane však kontrolovanie prietoku mobilnej fázy a gradientová elúcia môžu spôsobovať fluktuáciu signálu pozadia spôsobenú molekulovou absorpciou. Tento problém sa môže efektívne odstrániť vhodnou korekciou pozadia systému, napríklad Zeemanovým efektom^{30,31}.

Zlepšenie vlastností on-line kombinácie LC-ETAAS sa môže dosiahnuť použitím vhodného rozhrania³⁰. Wang a Hansen popísali možnosti sekvenčnej FIA techniky pre úspešné on-line prepojenie s ETAAS³². Využitie derivatizácie analytov s využitím HG techniky ako rozhrania pre on-line LC-ETAAS popísali vo svojich prácach viacerí autori^{13,33–36}. Použitie elektrospreja³⁷ resp. termospreja³⁸ ako rozhrania poskytuje vysokú citlivosť a dobrú stabilitu signálu pre on-line prepojenie ETAAS detektora s LC aj pri použití vodno-organických rozpúšťadiel.

3. Rozhrania pre rôzne detektory atómovej spektrometrie

V súčasnosti sa efektívne spájanie diskutovaných dvoch metód v on-line prepojení realizuje prostredníctvom rôznych rozhraní, vďaka ktorým sa dosahujú reprodukovateľnejšie výsledky a nižšie medze stanoviteľnosti. Dané rozhrania sú v prevažnej miere modifikáciami rozhraní vyvinutých pre efektívnejšie vnesenie vzorky do už existujúcich typov atomizátorov v atómovej spektrometrii a tým umožňujú efektívnejšie generovať voľné atómy prvkov zo vzorky.

Najpoužívanejšími rozhraniami pre prepojenie LC a atómovej spektrometrie sú techniky založené na generácii hydridov, zhmlovače a rôzne typy sprejov s účinnejšou zmenou kvapalnej fázy na aerosól. Výber typu rozhrania závisí od typu vzorky, typu použitého atomizátora ako aj od typu použitej techniky atómovej spektrometrie.

3.1. Zhmlovače

Jedným z najpoužívanejších rozhraní pre on-line kombináciu LC s detektormi atómovej spektrometrie sú zhmlovače. Používajú sa v plameňových a plazmových zdrojoch budenia. Kvapalná vzorka sa privádza do plameňa alebo plazmy vo forme aerosólu, ktorý je unášaný nosným plynom. Aerosól sa generuje priamo v zhmlovači. Kvôli lepšiemu transportu vzorky medzi študovanými technikami sa využívajú pneumatické, ultrazvukové, vysokotlakové ako aj ďalšie typy zhmlovačov.

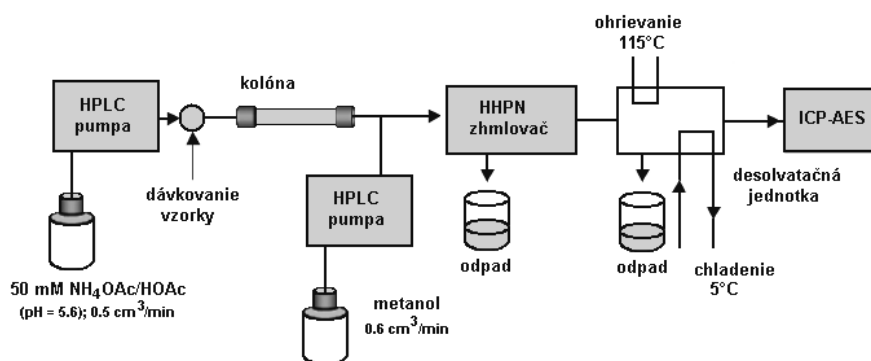
Na zhmlovanie roztokov sa najčastejšie využívajú pneumatické zhmlovače, hlavne pre jednoduchosť ich konštrukcie a robustnosť danej techniky^{10,11}, kde je LC systém spojený s atómovým detektorom priamo cez kapiláru. Komplexný súhrn o pneumatických zhmlovačoch spracoval Sharp vo svojej práci³⁹. Účinnosť pneumatických zhmlovačov je veľmi nízka (3–15 %), pretože len malá časť rozptýleného roztoku sa dostáva do plazmy alebo do plameňového atomizátora. V prípade malých koncentrácií analytov sú potom pozorované nízke signály, navyše sú často zaťažené veľkým šumom, alebo sú dokonca nemerateľné. Použitie pneumatických zhmlovačov pre kombináciu LC s atómovou spektrometriou je limitované, pretože účinnosť zhmlovača závisí tiež od fyzikálnych vlastností použitého rozpúšťadla (napríklad od viskozity). Ďalším obmedzením v prípade F-AAS je tiež veľká spotreba vzorky nasávanej kapilárou (okolo 5 ml min⁻¹). V prípade AES-ICP kompatibilita prietoku s LC systémom umožňuje priame spojenie jednoduchých metód napríklad na špeciáciu selénu^{23,40}. Použitím koncentrického pneumatického zhmlovača⁴¹ bola úspešne vyvinutá HPLC-AES-ICP metóda na špeciáciu organických zlúčenín selénu. Ebdon a spol. popísali štúdium špeciácie kremíka HPLC-AES-ICP metódou použitím pneumatického zhmlovača s priečnym tokom a s radiálnym vs. axiálnym pohľadom do plazmy⁴².

Prístupy k zlepšeniu vlastností zhmlovačov zahŕňujú použitie ďalšieho úpravného kroku alebo vylepšenie systému zhmlovania.

Jednou z možností je použitie prietokovej injekčnej analýzy (FIA) ako rozhrania pre prepojenie LC s F-AAS. FIA rozhranie dovoľuje optimalizovať vlastnosti oboch typov zariadení. Malý objem LC eluátu je použitý ako objem vzorky dávkaný cez FIA dávkovací ventil priamo do prúdu nosného rozpúšťadla vo FIA systéme, čoho výsledkom je prietoková rýchlosť kompatibilná s F-AAS. Rýchlym dávkovaním častí chromatografického píku v pravidelných intervaloch počas jeho elúcie zaznamenáme kontinuálny priebeh signálu vo forme série FIA píkov, kde maximá detegovaných FIA píkov opisujú profil píku (píkov) z LC elúcie⁴³.

Na zlepšenie účinnosti zhmlovača v priamom spojení LC a detektorov atómovej spektrometrie boli nájdené aj iné varianty zhmlovania. Jedna z možností je napríklad použitie hydraulického vysokotlakového zhmlovača (HHPN, hydraulic high pressure nebulizer) (obr. 2), s ktorým možno dosiahnuť vysoké účinnosti (> 80 %)⁴⁴ zhmlovania. V danej technike je nosný prúd kvapaliny čerpaný vysokotlakovou LC pumpou do veľmi tenkej kapiláry. Lineárna rýchlosť prúdenia v tejto kapiláre je tak veľká, že pri dopade prúdu kvapaliny na sklenú guľôčku umiestnenú v jej trase sa tvorí jemná hmla aerosólu s veľmi malým priemerom kvapôčok. Táto účinná technika zhmlovania môže byť využitá v on-line kombinácii LC s AES-ICP⁴⁵ ako aj s F-AAS¹⁹.

Ďalší prístup v riešení problému spočíva vo využití drahšieho ultrazvukového zhmlovača (USN, ultrasonic

Obr. 2. Schématický diagram prepojenia LC-HHPN-AES-ICP techniky⁸²

nebulizer), ktorého činnosť je založená na piezoelektrickom jave⁴⁶. V ultrazvukovom zhmlovači vzniká aerosól v dôsledku vibrácie monokryštálu vhodného materiálu (BaTiO_3) a mechanicky vytvorený hustý aerosól sa potom vhodným plynom transportuje do plazmy. Jeho výhodou je malá spotreba vzorky ($< 5 \mu\text{l}$) a vysoká účinnosť (70 až 80 %) tvorby aerosólu. Priemer generovaných kvapôčiek aerosólu je v porovnaní s pneumatickými zhmlovačmi menší ($\leq 5 \mu\text{m}$). Výhodou USN je hlavne to, že jeho použitím ako rozhrania dostaneme o jeden rád nižšie hodnoty medze stanoviteľnosti ako s pneumatickým zhmlovačom AES-ICP^{26,46}. Nevýhodou tejto techniky je však veľký pamäťový efekt, komplikovaná obsluha a v neposlednom rade aj jej vysoká cena.

V prípade mikrokolónovej LC je atraktívne použiť DIN, ktorý zhmľuje kvapalnú vzorku priamo v centrálnom kanáliku ICP horáka. Nízky objem ($\leq 2 \mu\text{l}$) a neprítomnosť sprejovej komory DIN minimalizuje pokolónové rozmytie pikov a umožňuje použiť veľmi malé prietoky ($30\text{--}100 \mu\text{l min}^{-1}$) mobilnej fázy. Ďalšou výhodou je jeho rýchle premytie a malé pamäťové vplyvy²⁵.

Z ďalších vylepšení účinnosti zhmľovania je použitie vysokoúčinného zhmlovača (HEN, high efficiency nebulizer) pre potreby on-line HPLC-AES-ICP metódy²⁴. Výhodou všetkých uvedených zhmľovacích techník je ich vynikajúca stabilita, nezávislosť od druhu stanovovaného analytu a často aj ich relatívne nízka cena v porovnaní s kombinovaným systémom.

3.2. Generácia hydridov

Nutnosť potreby kroku zhmľovania medzi LC separáciou a atómovým spektrometrom môže eliminovať pokolónová konverzia eluovaných kovov alebo ich organických zlúčenín do ich prchavejších foriem (zvyčajne hydridov). Analytický potenciál generovania hydridov (HG, hydride generation) ako prvý spracoval v roku 1969 vo svojej práci Holak⁴⁸. Generovanie hydridov (tiež príprava hydridov) je založené na tvorbe prchavých hydridov, binárnych zlúče-

nín vodíka a hydridotvorných prvkov ako Se, As, Bi, Sb, Te, Sn, Ge a Pb chemickou reakciou. Vhodným redukčným činidlom sa vyredukuje z roztoku vzorky plynný hydrid, ktorý sa transportuje nosným plynom do atomizátora. Redukcia analytu vo vzorke prebieha v kyslom prostredí (najčastejšie v roztoku HCl). Ako redukčné činidlo sa používa tetrahydridboritan sodný (NaBH_4), ktorý pri reakcii v roztoku uvoľňuje atómový vodík, ktorý ďalej reaguje s analytom za vzniku hydridu kovu.

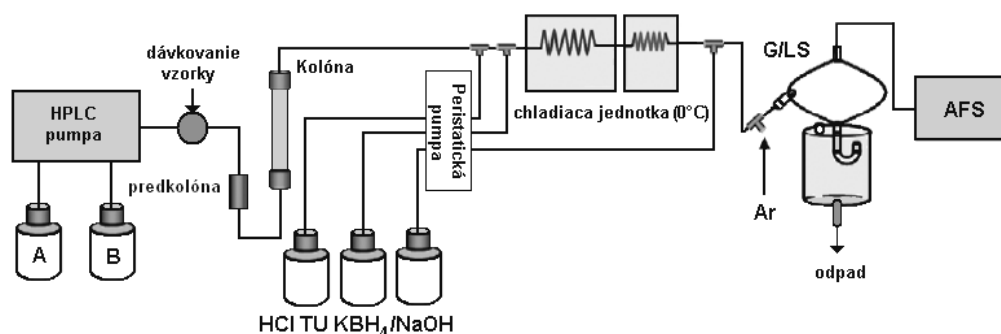
Táto citlivá technika dáva kontinuálny signál analytu so stálym charakterom, vďaka čomu môže byť analýza uskutočnená v kontinuálnom móde alebo FIA technikou. Prvú kompilačnú prácu pojednávajúcu o on-line kombinácii LC s atómovou spektrometriou založenou na pokolónovej HG publikoval Tsalev⁴⁹.

Veľkou výhodou HG techniky je separácia vyššie spomenutého vytvoreného hydridu prvku z matrice vzorky v separátore plyn-kvapalina, čím sa zníži relatívne pozadie v spektre analytu spôsobené interferentami. Ďalšími výhodami je možnosť nakoncentrovania analytov a stanovenie jednotlivých špecií využitím selektívnej tvorby hydridu pri kontrolovanom pH. V neposlednom rade je to vysoká účinnosť vnesenia hydridov nosným plynom do všetkých druhov atomizátorov (plameňového, elektrotermického a ICP) využívaných pre AAS, AES resp. ASF detektora (obr. 3).

Potenciálnou nevýhodou danej techniky je to, že prvok musí byť pred tvorbou hydridu vo vhodnom oxidačnom stupni. Ďalšou nevýhodou HG sú viaceré zdroje rušiacich vplyvov v priebehu prípravy hydridov.

Napriek spomenutým negatívam je HG najpoužívanejším rozhraním na on-line prepojenie LC a metód atómovej spektrometrie. Schéma tohto prepojenia cez rozhranie HG je zobrazená na obr. 2 podľa práce¹³.

Medzi najčastejšie stanovované prvky patria arzén, selén a antimón. Na špeciáciu anorganických a organických foriem arzenu [As(III), As(V) a menej toxické kyseliny monometylarzeničná (MMA) a dimetylarzeničná (DMA)], v biologických vzorkách a vzorkách životného

Obr. 3. Schématický diagram prepojenia LC-HG-AFS techniky⁶¹

prostredia, autori vo svojich prácach použili viacero analytických metód využívajúcich HG rozhranie ako napríklad LC-HG-F-AAS^{13,15,18,50}, LC-HG-ETAAS^{13,35,36}, LC-HG-AFS⁵¹ a LC-HG-AES-ICP^{28,52}. Antimón je ďalším prvkom, ktorého analyticky významnými formami sú Sb(III), Sb(V) a trimetylantimondichlorid $[(\text{CH}_3)_3\text{SbCl}_2]$. Spojenie LC-HG so špecifickými detektormi AAS^{53,54} a AFS^{55–58} bolo využité pri špeciálnej analýze antimónu v environmentálnych vzorkách (voda a pôdne sedimenty). Spojenie LC-HG-AAS s plameňovou^{59,60} resp. elektrotermickou³³ atomizáciou ako aj spojenie LC-HG-AFS⁶¹ bolo úspešne použité na špeciáciu chemických foriem selénu [Se(IV), Se(VI), selenometionín (SeMet), selenoetionín (SeEt), selenocystín (SeCys) a selenometylselenocystín (SeMeSeCys)] či už v biologických alebo environmentálnych vzorkách. Na zlepšenie účinnosti HG sa do systému pridáva ešte jeden on-line úpravny krok, ktorý je založený na UV fotooxidácii^{62–68} alebo mikrovlnovom rozklade vzoriek^{69–72}.

Jednou z nových modifikácií HG je aj technika nazývaná elektrochemická generácia pár (ECVG, electrochemical vapor generation), pôvodne vyvinutá pre FIA⁷³. ECVG je založená na elektrochemickej redukcii na katóde ako náhrade za použitie silných a nestabilných redukčných činidiel (KBH_4 a SnCl_2). Výhody ECVG oproti klasickej HG sú najmä v zlepšení stability plazmy pri ICP vplyvom menšieho množstva vytvoreného vodíku, v znížení kontaminácie činidiel a v zlacnení analýzy. Daný systém je vhodný hlavne pre kombináciu LC s ICP-AES resp. s AFS⁷⁴.

Špeciálnou technikou generovania prchavých zlúčenín je technika studených pár (CV, cold vapor), ktorá je založená na generovaní plynnej elementárnej ortuti. Aj v tejto technike je možné v prípade nízkych koncentrácií ortuti vo vzorke použiť nakoncentrovanie, kde sú vzniknuté pary ortuti zachytené vo forme amalgámu na striebre alebo na zlate. On-line kombinácie LC-VC-AAS⁷⁵ resp. LC-VC-AFS^{17,76,77} sú vhodnými citlivými a vysoko-selektívnymi technikami na špeciáciu anorganických a organických foriem ortuti.

3.3. Spreje

Spojenie LC s atómovou spektrometriou je možné realizovať aj využitím efektu spreja a to konkrétne termospreja alebo elektrospreja⁷⁸. Tieto rozhrania môžu byť použité pre prietoky mobilných fáz ($0,5\text{--}2,0\text{ ml min}^{-1}$), ktoré sú bežne používané v LC, čo na jednej strane poskytuje vyššie signály, ale na druhej strane spôsobuje problém s odstránením rozpúšťadla z eluentu. Dané techniky taktiež neumožňujú v praxi pracovať s mobilnými fázami obsahujúcimi vysoké koncentrácie anorganických tlmivých roztokov kvôli ich možnému vykryštalizovaniu na stenách kapiláry.

Termosprej bol pôvodne navrhnutý pre spojenie LC-MS, ale časom sa stal významnou aerosólovou technikou pre prenos kvapalnej vzorky do plameňa v FAAS, do plazmy v ICP-AES alebo ETAAS⁷⁸.

Rozdiely medzi termosprejom a pneumatickým zhmlovačom môžeme zhrnúť v nasledujúcich bodoch:

1. zhmlovací plyn vzniká priamo z kvapalnej vzorky,
2. aerosól je tvorený pri vysokých teplotách,
3. kvapalná vzorka a aerosól sú čiastočne desolvované pri samotnom termosprejovom procese,
4. kvapalinové a plynové toky nie sú fyzicky oddelené pred výstupom z termospreja.

Zaujímavé je využitie termospreja ako rozhrania medzi LC a ETAAS v automatizovanom móde pre stanovenie špecií arzenu⁷⁸ resp. olova a kadmia³⁸. Tento systém poskytuje dobrú citlivosť a reprodukovateľnosť detekcie s vhodným vzorkovaním chromatografického eluentu.

Ďalším typom sprejov sú tzv. elektrospreje, ktoré sú vhodným spájacím prvkom hlavne s ICP²⁷ a elektrotermickou atomizáciou³⁷. Mechanizmus elektrospreja je založený na tom, že eluent z chromatografickej kolóny prechádza cez kapiláru, na ktorú je vložené vysoké napätie ($3\text{--}5\text{ kV}$). Plošná vybijacia elektróda (potenciál zeme) má otvor do dávkovača AES-ICP alebo do ETAAS atomizátora. Veľmi veľká intenzita elektrického poľa ($E \approx 10^6\text{ V m}^{-1}$) spôsobuje dodávanie energie s čiastočným vniknutím kvapaliny na špičku kapiláry. Povrch kvapaliny sa formuje v smere poľa a vytvára kužeľ, z ktorého je prúdiaca kvapa-

lina vystrekovaná a vytvára samostatné kvapôčky aerosólu. Kvapôčky sa rozpadnú (zmrstia sa) následkom vypychania rozpúšťadla, následného elektrostatického odpuzdovania sa iónov a rozdelia sa na maličké kvapôčky „suchého aerosólu“³⁷. Elektrosprej bol vhodne použitý ako rozhranie pre kombináciu mikro-LC s prietokovou rýchlosťou 10 $\mu\text{l min}^{-1}$ a AES-ICP detektora pre špeciáciu organokovových zlúčenín²⁷.

4. Využitie rôznych techník kvapalinovej chromatografie v spojení s atómovou spektrometriou

Kombinácie metód LC a atómovej spektrometrie sa využívajú hlavne na stanovenie a špeciáciu tých prvkov na nízkych koncentračných úrovniach, ktoré sú zaujímavé pri analýze biologických vzoriek a vzoriek životného prostredia. To, akú z mnohých techník LC môžeme použiť, závisí aj od typu detektora a tiež od použitého rozhrania.

V špeciálnej analýze sa najčastejšie využíva iónovo-výmenná chromatografia (IEC, ion-exchange chromatography), kde stacionárnou fázou je iónomenič. Pri špeciácii prvkov v jednoduchších vzorkách životného prostredia (vody) a v biologických vzorkách (moč) sa využívajú hlavne aniónovo-výmenné kolóny ako Supelco LC-SAX1^{35,36}, Hamilton PRP X-100^{36,79}. Ako zložky mobilných fáz potom prevládajú vodné tlmivé roztoky s rôznymi pH hodnotami.

Dalšou tradičnou technikou je HPLC na obrátených fázach (RP-HPLC) s C-18 kolónami, v ktorej sú v prevažnej miere jednou zo zložiek mobilných fáz organické rozpúšťadlá (napríklad acetonitril a metanol). Ak si úspešná separácia nevyžaduje veľkú elučnú silu, môžu sa tieto rozpúšťadlá pridávať do mobilnej fáze na nízkej koncentračnej úrovni, napríklad 1 % (v/v) acetonitrilu v prípade spojenia s HG-AES-ICP⁵². Vyššia koncentrácia 15 % (v/v) metanolu s 2 % (v/v) acetonitrilu v mobilnej fáze bola použitá pri priamom spojení RP-HPLC s F-AAS¹¹. Mobilná fáza obsahujúca 7 % (v/v) metanolu bola použitá pre špeciálnu analýzu ortuť RP-HPLC-CV-AFS metódou¹⁷.

Využitie dvoch LC separačných mechanizmov: aniónovej výmeny (IEC) a hydrofóbneho efektu (RP-HPLC) využili autori na špeciáciu anorganických a organických foriem selénu pomocou systému prepínania kolón (column-switching)⁷⁰.

Pre zložitejšie matrice (mlieko), obsahujúce veľké zlúčeniny (proteíny), autori použili gélovú chromatografiu (SEC, size exclusion chromatography) v spojení s HG-ETAAS pre zistenie distribúcie medi⁸⁰, selénu³³ a železa⁸¹ v separovaných frakciách proteínov.

5. Záver

Na záver môžeme zhrnúť, že kombinácia kvapalinovej chromatografie s metódami atómovej spektrometrie je stále atraktívnou technikou, hlavne na špeciálnu analýzu

prvkov. Použitím vhodného rozhrania sa môže eliminovať nekompatibilita oboch techník. Najpoužívanejšími rozhraniami sú techniky založené na zhmlovaní, generovaní hydridov a použití sprejov. Ich použitím sa tiež môže zvýšiť spoľahlivosť stanovenia a znížiť medze stanoviteľnosti. Najvyužívanejším mechanizmom LC je iónovo-výmenná chromatografia, keďže sa špeciácia využíva hlavne pri prvkovej analýze kovov vo forme iónov. Pre hydrofóbnejšie organické formy prvkov sa využíva LC na obrátených fázach. Vhodným výberom rozhrania, jeho optimalizáciou a nastavením metód je možné dosiahnuť nízke medze stanoviteľnosti na úrovniach stotín ng ml^{-1} .

Kombinácia kvapalinovej chromatografie a atómovej spektrometrie ponúka široké uplatnenie pri špeciácii a stanovení prvkov pri analýzach rôznych biologických vzoriek a vzoriek životného prostredia.

Táto práca vznikla za finančnej podpory grantov MŠ SR VEGA 1/3563/06, APVV-0595-07, SR VEGA 1/0329/10 a VVCE-0070-07.

LITERATÚRA

1. Florence T. M.: *Talanta* 29, 354 (1982).
2. Ure A. M., Davidson C. M.: *Chemical Speciation in the Environment*, str. 1. Blackie, London 1990.
3. Templeton D. M., Ariese F., Cornelis R., Danielsson L. G., Muntau H., Van Leeuwen H. P., Lobinski R.: *Pure Appl. Chem.* 72, 1453 (2000).
4. Harrison R. M., Rapsomanikis S.: *Environmental Analysis Using Chromatography Interfaced with Atomic Spectroscopy*, John Wiley & Sons, New York 1989.
5. Chausseau M., Roussel C., Gilon N., Mermet J. M.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 366, 476 (2000).
6. Seubert A.: *TRAC – Trend. Anal. Chem.* 20, 274 (2001).
7. Fung Y. S., Sham W. C., *Analyst* 119, 1029 (1995).
8. Ebdon L., Hill S., Ward R. W.: *Analyst* 111, 1113 (1986).
9. Qualigtz G., Vo-Dinh T.: *Handbook of Spectroscopy*. Wiley-VCH, Weinheim 2003.
10. Ali I., Aboul-Enein H. Y.: *Chemosphere* 48, 275 (2002).
11. Sarica D. Y., Türker A. R., Erol E.: *J. Sep. Sci.* 29, 1600 (2006).
12. Sommer L., Komarek J., Burns D. T.: *Pure Appl. Chem.* 64, 213 (1992).
13. Sur R., Dunemann L.: *J. Chromatog., B.* 807, 169 (2004).
14. Vinas P., Lopez-Garcia I., Merino-Merono B., Hernandez-Cordoba M.: *Chromatographia* 57, 611 (2003).
15. Kozak L., Niedzielski P., Szczucinski W.: *Int. J. Environ Anal. Chem.* 88, 989 (2008).
16. Vinas P., Lopez-Garcia I., Merino-Merono B., Hernandez-Cordoba M.: *Talanta* 68, 1401 (2006).
17. Houserová P., Matějíček D., Kubáň V., Pavlíčková J., Komárek J.: *Chem. Listy* 101, 495 (2007).

18. Anthemidis A. N.: *Talanta* 77, 541 (2008).
19. Yanez J., Berndt H.: *Bol. Soc. Chil. Quim.* 45, 535 (2000).
20. Mester Z., Fodor P.: *Anal. Chim. Acta* 386, 89 (1999).
21. Uden P. C.: *J. Chromatogr., A* 703, 393 (1995).
22. Makarov A., Szpunar J.: *J. Anal. At. Spectrom.* 14, 1323 (1999).
23. Gailer J., Buttigieg G. A., Denton M. B.: *Appl. Organometal. Chem.* 17, 570 (2003).
24. Paredes E., Prats M. S., Maestre S. E., Todolí J. L.: *J. Chromatogr., A* 111, 469 (2008).
25. Emteborg H., Bordin G., Rodriguez A. R.: *Analyst* 123, 245 (1998).
26. Carr J. E., Kwok K., Webster G. K., Carnahan J. W.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 40, 42 (2006).
27. Elgersma J. W., Kraak J. C., Poppe H.: *J. Anal. Atom. Spectrom.* 12, 1065 (1997).
28. García Salgado S., Quijano Nieto M. A., Simón M. M. B.: *J. Chromatogr., A* 1129, 54 (2006).
29. Mihucz V. G., Tatár E., Kmety B., Záray., Cseh E.: *J. Inorg. Biochem.* 81, 81 (2000).
30. Burguera J. L., Burguera M.: *Analyst* 123, 561 (1998).
31. Emteborg H., Bordin G., Rodriguez A. R.: *Analyst* 123, 893 (1998).
32. Wang J., Hansen E. H.: *TRAC – Trend. Anal. Chem.* 24, 1 (2005).
33. Bermejo P., Barciela J., Peña, Bermejo A., Fraga J. M., Cocho J. A.: *J. Anal. At. Spectrom.* 16, 188 (2001).
34. Grotti M., Rivaro P., Frache R.: *J. Anal. At. Spectrom.* 16, 270 (2001).
35. Niedzielski P.: *Anal. Chim. Acta* 551, 199 (2005).
36. Tsalev D.L., Sperling M., Welz B.: *Analyst* 123, 1703 (1998).
37. Rychlovký P., Černoš P., Skleničková M.: *Anal. Bioanal. Chem.* 374, 955 (2002).
38. Ivanova E., Berndt H., Pulvermacher E.: *J. Anal. At. Spectrom.* 19, 1507 (2004).
39. Sharp B. L.: *J. Anal. Atom. Spectrom.* 3, 613 (1988).
40. Tsopelas F. N., Ochsenschüh-Petropoulou M. Th., Mergias I. G., Tsakanika L. V.: *Anal. Chim. Acta* 539, 327 (2005).
41. Abbas-Ghaleb K., Gilon N., Cretier G., Mermet J. M.: *Anal. Bioanal. Chem.* 377, 1031 (2003).
42. Ebdon L., Foulkes M., Fredeen K., Hanna C., Sutton K.: *Spectrochim. Acta, B* 53, 859 (1998).
43. Burguera J. L.: *Flow Injection Atomic Spectroscopy*, str. 149. Marcel Dekker, New York 1989.
44. Weber G., Berndt H.: *Chromatographia* 29, 254 (1990).
45. Luo S. K., Berndt H.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 360, 545 (1998).
46. Stupar J., Frech W.: *J. Chromatogr., A* 541, 243 (1991).
47. Das D., Carnahan J. W.: *Anal. Chim. Acta* 444, 229 (2001).
48. Holak W.: *Anal. Chem.* 41, 1712 (1969).
49. Tsalev D.: *J. Anal. At. Spectrom.* 14, 147 (1999).
50. Gómez-Ariza J. L., Sanchez-Rodas D., Giraldez I.: *Anal. At. Spectrom.* 13, 1375 (1998).
51. Moscoso-Pérez C., Moreda-Piñeiro J., López-Mahía P., Muniategui-Lorenzo S., Fernández-Fernández E., Prada-Rodríguez D.: *J. Chromatogr., A* 1215, 15 (2008).
52. Do B., Alet., Pradeau D., Poupon J., Guilley-Gaillet M., Guyon F.: *J. Chromatogr., B* 740, 179 (2000).
53. Satiroglu N., Bektas S., Genc O., Hazer H.: *Turk. J. Chem.* 24, 371 (2000).
54. Kozak L., Niedzielski P.: *Anal. Chim. Acta* 34, 71 (2008).
55. Miravet R., López-Sánchez J. F., Rubio R.: *Anal. Chim. Acta* 576, 200 (2006).
56. De Gregori I., Quiroz W., Pinochet H., Pannier F., Potin-Gautier M.: *J. Chromatogr., A* 1091, 94 (2005).
57. Potin-Gautier M., Pannier F., Quiroz W., Pinochet H., De Gregori I.: *Anal. Chim. Acta* 533, 214 (2005).
58. Sayago A., Beltran R., Recamales M. A. F., Gómez-Ariza J. L.: *J. Anal. Atom. Spectrom.* 17, 1400 (2002).
59. Raessler M., Michalke B., Schulte-Hostede S., Ketrup A.: *Sci. Total Environ.* 258, 171 (2000).
60. Chatterjee A., Shibata Y., Morita M.: *Microchem. J.* 69, 179 (2001).
61. Qiu J., Wang Q., Ma Y., Yang L., Huang B.: *Spectrochim. Acta, B* 61, 803 (2006).
62. Tsalev D. L., Sperling M., Welz B.: *Spectrochim. Acta, B* 55, 339 (2000).
63. Liu H. L., Zhao R., Wei C., Xing Z., Yan J. R., Zhang X. R.: *Chin. J. Anal. Chem.* 33, 1522 (2005).
64. De Gregori I., Quiroz W., Pinochet H., Pannier F., Potin-Gautier M.: *Talanta* 73, 458 (2007).
65. Gómez-Ariza J. L., Sanchez-Rodas D., Beltran R., Giraldez I.: *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 74, 203 (1999).
66. Mazej D., Falnoga I., Veber M., Stibilj V.: *Talanta* 68, 558 (2006).
67. Smrkolj P., Stibilj V., Kreft I., Kopolna E.: *Anal. Sci.* 21, 1501 (2005).
68. Simon S., Tran H., Pannier F., Potin-Gautier M.: *J. Chromatogr., A* 1024, 105 (2004).
69. Villa-Lojo M. C., Alonso-Rodríguez E., López-Mahía P., Muniategui-Lorenzo S., Prada-Rodríguez D.: *Talanta* 57, 741 (2002).
70. Gómez-Ariza J. L., Sánchez-Rodas D., Caro De la Torre M. A., Giraldez I., Morales E.: *J. Chromatogr., A* 889, 33 (2000).
71. Sur R., Begerow J., Dunemann L.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 363, 526 (1999).
72. Johansson M., Bordin G., Rodríguez A. R.: *Analyst* 125, 273 (2000).
73. Lin Y. H., Wang X. R., Yuan D. X., Yang P. Y., Huang B. L., Zhuang Z. X.: *J. Anal. Atom. Spectrom.* 7, 287 (1992).
74. Liang J., Wang Q., Huang B.: *Anal. Bioanal. Chem.* 381, 366 (2005).
75. Río-Segade S., Bendicho C.: *Talanta* 48, 477 (1999).
76. Houserová P., Matějíček D., Kubáň V., Pavlíčková J.,

- Komárek J.: *J. Sep. Sci.* 29, 248 (2006).
77. Gao E. L., Jiang G. B., He B. Yin Y. G., Shi J. B.: *J. Anal. At. Spectrom.* 23, 1397 (2008).
78. Zhang X., Chen D., Marguardt R., Koropchak J. A.: *Microchem. J.* 66, 17 (2000).
79. Simon S., Barats A., Pannier F., Potin-Gautier M.: *Anal. Bioanal. Chem.* 383, 562 (2005).
80. Bermejo P., Peña E., Fompedriña D., Domínguez R., Bermejo A., Fraga J. M., Cocho J. A.: *Analyst* 126, 571 (2001).
81. Bermejo P., Peña E., Fompedriña D., Domínguez R., Bermejo A., Fraga J. M., Cocho J. A.: *Talanta* 50, 1211 (2000).
82. Gasparic T., Mihucz V. G., Tatár E., Záray G.: *Microchem. J.* 73, 89 (2002).

R. Halko, T. Neuročný, and M. Hutta (*Department of Analytical Chemistry, Faculty of Natural Science, Comenius University, Bratislava, Slovak Republic*): **Combination of Liquid Chromatography and Atomic Spectrometry for Speciation of Elements**

This article reviews advances in application of liquid chromatography as a separation method and atomic spectrometry as a detection method. The review is focused on their combination, interfacing and optimization. On-line and off-line techniques of their combination are compared. Various types of interfaces, such as hydride generators, nebulizers and sprays, their potential utilization and their advantages and drawbacks are also discussed. Applications of combined liquid chromatography and atomic spectrometry to analysis of toxic elements (As, Hg, Se, and Sb) and those showing other adverse effects on human health in biological and environment samples are presented.

MANEKO

Laboratorní přístroje a technika

Chemikálie a činidla

Laboratorní sklo a porcelán

Plasty a spotřební materiál

Ochranné pomůcky

Laboratorní vybavení

Přístroje pro mechanické operace

Přístroje pro separaci a koncentraci vzorků

Měřicí přístroje

Přístroje pro speciální biologické aplikace

Katalog



zasíláme
zdarma



BINDER

Best conditions for your success

salvisLAB

Alfa Aesar

A Johnson Matthey Company

Cole-Parmer
Delivering Solutions You Trust

TOF
INDUSTRIE

ILMVAC

Maneko, spol. s r. o.
Na Pískách 71
160 00 Praha 6

www.maneko.cz

233 335 638-9
233 336 579
Fax: 233 332 656

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

LIMITOVANÁ A PULZNÍ PROTEOLÝZA LIDSKÉHO HEMOGLOBINU

VOJTĚCH JURGA a MILAN KODÍČEK

*Ústav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-
technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha
Vojtech.Jurga@vscht.cz*

Došlo 12.9.09, přijato 25.9.09.

Klíčová slova: hemoglobin, pulzní proteolýza, limitovaná proteolýza

Úvod

Studium vlastností mutantních forem bílkovin je provázeno značným množstvím překážek. Již sama purifikace nemutované bílkoviny je často náročný proces, jehož úspěch není vždy zaručen; chceme-li se navíc zabývat jeho mutanty, je nutné být připraven na to, že záměna jedné aminokyseliny může vést ke změnám charakteristik molekuly ovlivňujícím podmínky pro její úspěšnou izolaci. Pro srovnání mutantních forem jedné bílkoviny je tedy vhodné mít k dispozici metody umožňující práci s proteinem v hrubém buněčném extraktu, jejichž využití slibuje významnou časovou a finanční úsporu. Takových metod však není mnoho. Komplexností studovaného roztoku jsou diskvalifikovány metody spektroskopické, ze stejného důvodu lze jen velmi opatrně interpretovat a diskutovat data popisující katalytickou aktivitu enzymu, neboť nelze vyloučit přítomnost nízkomolekulárních látek a proteinů působících jako efektoři. Jako jedna z mála vhodných metod se jeví pulzní proteolýza¹, určená ke studiu konformační stability molekul bílkovin.

Pulzní proteolýza využívá ke stanovení stability proteinu fakt, že sbalený protein je vůči proteolýze odolnější než protein rozbalený. Protein je rozpuštěn v řadě roztoků o vzrůstající koncentraci denaturačního činidla a po nastolení konformační rovnováhy je podroben enzymové hydrolyze nespecifickou proteasou (thermolysin, EC 3.4.24.27), která je krátkodobě schopna katalýzy i za silně denaturujících podmínek. Doba proteolytického pulzu umožňuje štěpení pouze denaturovaného podílu studovaného proteinu, zatímco sbalené molekuly zůstávají zachovány. Po následné elektroforetické analýze roztoků je vyhodnocena optická densita zóny, odpovídající neštěpenému proteinu. Tato veličina je vynesena proti koncentraci denaturačního

činidla za zisku obvykle sigmoidní denaturační křivky, která bývá obrazem jednostupňového denaturačního kooperativního přechodu. Mírou stability proteinu je koncentrace denaturačního činidla v inflexním bodě této křivky. Rozšíření této metody o Western blot s imunochemickou detekcí a následnou kvantifikací signálu slibuje možnost srovnání konformační stability bílkovin v hrubých buněčných extraktech.

Metoda limitované proteolýzy spočívá ve štěpení výrazného přebytku studovaného proteinu specifickou proteasou (trypsin, EC 3.4.21.4), během kterého jsou z reakce v pravidelných intervalech odebrány alikvotní podíly, v nichž je štěpení zastaveno. Po přidavku vnitřního standardu jsou všechny podíly analyzovány hmotnostní spektrometrií. Při vyhodnocení spekter jsou porovnávány relativní intenzity signálu jednotlivých peptidů v závislosti na době štěpení.

Nejčastější forma lidského hemoglobinu, HbA, je tetramer složený ze dvou polypeptidů α -globinu od délce 141 aminokyselin a dvou polypeptidů β -globinu o délce 146 aminokyselin. Oba typy řetězců tvoří osm α -helikálních segmentů, které následně zaujímají globulární terciární strukturu. Svinuté helixy tvoří kapsu, ve které je vázána molekula hemu. Tyto polypeptidy jsou prakticky totožné svým prostorovým uspořádáním, byť se jejich aminokyselinové složení liší. Přičteme-li nebývalou snadnou dostupnost, jeví se hemoglobin jako vhodný model pro metody určené ke studiu vlivu záměny aminokyselin na stabilitu proteinu.

Experimentální část

Pulzní proteolýza

Z lidských erytrocytů byl izolován hemoglobin ve formě 3% roztoku (w/w), resp. globin, renaturovaný v roztoku o koncentraci 0,66 % (w/w)². S využitím jednoho z těchto roztoků, 8 M roztoku močoviny a 1 M CaCl₂ byly připraveny roztoky koncentrační řady močoviny o objemu 100 μ l, koncentraci proteinu 0,5 g dm⁻³ a koncentraci CaCl₂ 10 mmol dm⁻³. Pro ustavení rovnováhy mezi sbaleným a denaturovaným stavem proteinu byly roztoky ponechány při laboratorní teplotě přes noc.

Do každého z roztoků byly poté přidány 2 μ l roztoku thermolysinu (10 g dm⁻³ v 2,5 M NaCl, 10 mM CaCl₂), tedy v poměru thermolysin: hemoglobin 2:5 (w/w). Reakce probíhala po dobu 60 s za laboratorní teploty a byla zastavena přenesením 15 μ l vzorku do předem připravených 5 μ l roztoku EDTA (50 mmol dm⁻³, pH 8). Takto získaný roztok byl poté rozdělen elektroforeticky (SDS-PAGE, 15% polyakrylamid, $U_{konst} = 160$ V), po obarvení Coomassie Brilliant Blue R-250 a digitalizaci elektroforeo-

gramu byla optická denzita jednotlivých zón vyhodnocena s využitím programu ImageJ (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>)¹.

Limitovaná proteolýza

Vodný 0,66% roztok lidského globinu byl ředěn 0,05 M NH_4HCO_3 na výslednou koncentraci globinu $1,85 \text{ g dm}^{-3}$. Po spuštění reakce, probíhající při teplotě 37°C , přidavkem trypsinu (1 g dm^{-3} v $50 \text{ mM NH}_4\text{HCO}_3$) ke globinu v poměru 1:500 (w/w) byly v daných časových intervalech odebrány podíly o objemu $9 \mu\text{l}$, ve kterých bylo štěpení zastaveno přidáním $1 \mu\text{l}$ 5% kyseliny trifluoroctové. Ke každému z takto získaných roztoků byly jako vnitřní standard přidány $2 \mu\text{l}$ vodného roztoku slepičího lysozymu (EC 3.2.1.17; $1,6 \text{ g dm}^{-3}$).

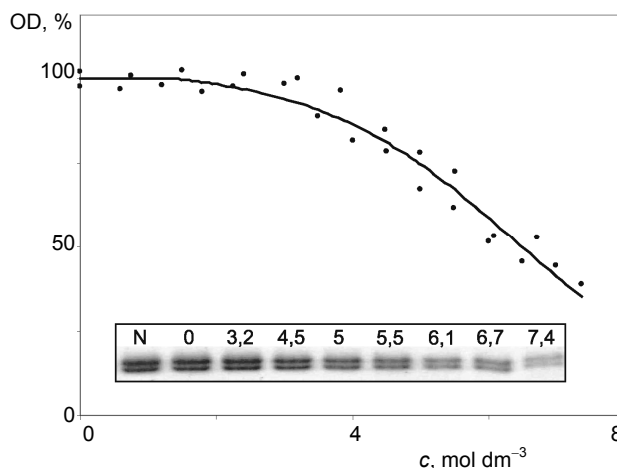
Z každého roztoku, získaného postupem popsaným v předchozím odstavci, byl $1 \mu\text{l}$ smíchán s $1 \mu\text{l}$ roztoku 2,5-dihydroxybenzoové kyseliny (DHB, 20 mg ml^{-1} v 30% acetonitrilu a 0,1% trifluoroctové kyselině) a po vyschnutí analyzován v reflektorovém režimu hmotnostního spektrometru. $1 \mu\text{l}$ každého z roztoků byl také smíchán s 3,5-dimethoxy-4-hydroxyokořicovou kyselinou (SA, nasycený roztok v 30% acetonitrilu a 0,1% trifluoroctové kyselině) a po vyschnutí analyzován v lineárním režimu hmotnostního spektrometru. Všechna měření probíhala na hmotnostním spektrometru Biflex IV firmy Bruker Daltonics GmbH při napětí $U_{\text{konst}} = 19 \text{ kV}$ a tlaku $<9 \cdot 10^{-5} \text{ Pa}$ s využitím externí kalibrace standardem mh-pepmix (vzorky s DHB) a mh-protmix I (vzorky s SA). Získaná spektra byla zpracována programem mMass (v2.4.0, <http://mmass.biographics.cz>) a vyhodnocena jak jeho prostřednictvím, tak s využitím vyhledávacího nástroje Mascot PMF.

Výsledky a diskuse

Pulzní proteolýza

Metodou pulzní proteolýzy byla potvrzena dlouho známá skutečnost, že odstraněním hemové skupiny z molekuly hemoglobinu je zbylý polypeptidový řetězec značně destabilizován. Zatímco koncentrace močoviny v inflexním bodě sigmoidní závislosti poklesu procentuálního zastoupení nativního hemoglobinu byla stanovena na $c_{\text{inf}} = 6,4 \pm 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ (obr. 1), globin je za podmínek metody zcela štěpen i bez přítomnosti denaturačního činidla. Na základě potřeby proměřit zmíněnou závislost i pro globin byl testován poměr koncentrací thermolysin:globin 1:5 (w/w), výsledky však nebyly reprodukovatelné.

Jak je patrné z grafu na obr. 1, za použitých podmínek nedochází k úplnému rozštěpení hemoglobinu. Proto jsme použili roztok močoviny o koncentraci 10 mol dm^{-3} (možnost proměřit závislost na $0\text{--}9 \text{ mol dm}^{-3}$ močoviny) a byl testován zvýšený poměr thermolysin:hemoglobin (3:5, w/w) a prodloužená doba štěpení (90 s). Tyto úpravy publikovaného protokolu¹ však nevedly ke kýženému



Obr. 1. Procentuální zastoupení neštěpeného hemoglobinu po proteolytickém pulzu v závislosti na koncentraci močoviny s ukázkou elektroforeogramu po aplikaci pulzní proteolýzy na lidský hemoglobin; číselné označení jednotlivých drah odpovídá koncentraci močoviny ve vzorku v mol dm^{-3} , N označuje neštěpenou kontrolu. Optické denzity zóny neštěpeného hemoglobinu v SDS-PAGE gelu odpovídá 100 %

výsledku, navíc naměřené body vykazovaly větší experimentální rozptyl. Zdá se, že vysoká koncentrace močoviny již vede k inhibici katalytické aktivity thermolysinu, zatímco prodloužení reakční doby či zvýšení poměru proteasy ke studovanému proteinu umožňuje i štěpení nedenaturovaného podílu tohoto proteinu.

Metoda pulzní proteolýzy poskytuje výsledky dobře korelující s dříve provedenými měřeními cirkulárního dichroismu³. Oproti jiným metodám studia konformační stability proteinu je úspornější vzhledem k množství použitého materiálu a náročnosti na laboratorní vybavení, perspektivní je však zejména možnost využití pro studium proteinů v hrubém extraktu z buněčného lyzátu, případně porovnání stability několika proteinů během jedné analýzy.

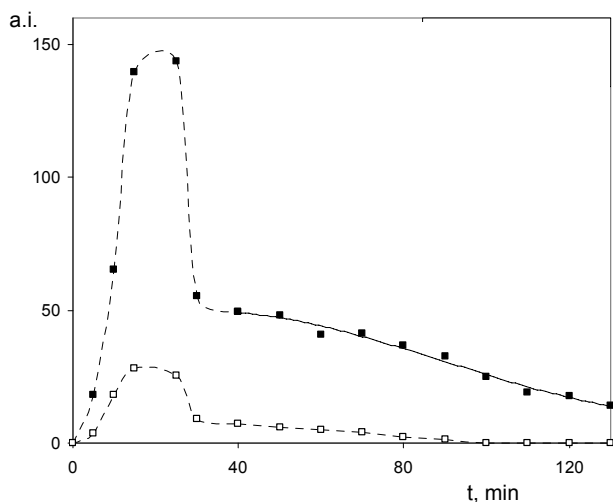
Pro umožnění enzymové hydrolýzy peptidové vazby musí daný úsek substrátové bílkoviny interagovat s aktivním místem proteasy, proto je zpravidla nutné, aby zaujal pozměněnou – nataženou – konformaci. Některé proteasy (např. trypsin) jsou schopny prostřednictvím vzájemných interakcí navodit lokální přizpůsobení struktury štěpeného řetězce, přičemž α -helikální úseky jsou tomuto částečnému rozbalení více přístupné než β -struktury⁴. Thermolysin však pro štěpení potřebuje úsek minimálně 11-ti aminokyselinových zbytků v rozvolněné konformaci⁵. Právě denaturace vlivem rostoucí koncentrace močoviny vede ke zpřístupnění polypeptidových řetězců.

Při použití pulzní proteolýzy je však nutné zohlednit také přirozený výskyt flexibilních oblastí v molekulách bílkovin. Tyto úseky mohou v konformaci proteinu představovat relativně nevýznamné oblasti snížené stability, mohou však také zastávat důležité funkční úlohy, např.

raménko spojující katalytickou a autoinhibiční doménu enzymu; lze je identifikovat metodami limitované proteolýzy⁶. V bílkovinných strukturách získaných rentgenovou krystalografií odpovídají oblastem s větším B-faktorem, nejistou elektronovou hustotou a větším rozptylem hodnot úhlů vazeb v peptidovém řetězci⁷. Pulzní proteolýza proto ve skutečnosti nesrovnává jen zastoupení nativní a denaturované formy proteinu, ale při nízkých koncentracích močoviny i zastoupení molekul sbalených a lokálně či globálně rozvolněných. Z výše zmíněného a definice denaturace jako podstatné změny prostorového uspořádání molekuly proteinu, při níž dochází ke ztrátě jejích biologických funkcí⁸, plyne, že nativní konformace nemusí nutně být rigidně sbalená a proteolyticky odolná. Je proto nutné přistupovat k interpretaci získaných dat s patřičnou obezřetností, zejména pak při srovnávání konformační stability strukturálně nepodobných bílkovin.

Limitovaná proteolýza

Z přítomnosti flexibilních úseků a lokálních fluktuací struktury bílkovin naopak těžší metoda limitované proteolýzy. Tato metoda byla použita k porovnání míst prvního štěpení a nejstabilnějších fragmentů lidského α - a β -globinu; v daném časovém intervalu nebylo pozorováno dostatečně spolehlivě interpretovatelné štěpení nativního hemoglobinu. Vzdor značné strukturální analogii obou polypeptidů se jejich nejstabilnější oblasti značně liší jak svou polohou v sekvenci, tak prostorovým uspořádáním. Daleko nejdolnější vůči proteolýze trypsinem se jeví fragment α :Leu91-Lys139, tedy helixy G a H α -globinu, které jsou v hmotnostním spektru proteolytické směsi detegovatelné i po více než dvou hodinách. Nejstabilnější úsek β -globinu, β :Val67-Lys132, nevykazuje srovnatelnou stabi-



Obr. 2. Relativní intenzity signálu peptidů (a.i.) vznikajících trypsinovou hydrolýzou lidského globinu v závislosti na čase; ■ α :Leu91-Lys139, □ β :Val67-Lys132

tu (obr. 2). První štěpenou vazbou v lidském α -globinu je Arg31-Met32; první štěpená vazba polypeptidu β -globinu, Lys132-Val133, spadá naopak do oblasti nejvyšší proteolytické odolnosti α -globinu.

Proteolytickou odolnost peptidu α :Leu91-Lys139 zdůvodňujeme stericky umožněnou interakcí antiparalelních helixů G a H. Postranní řetězec lysinu na pozici 99 směřuje přímo do nukleofilního jádra tvořeného postranními řetězci serinu 133 a dvou threoninů v pozicích 134 a 137. Současně se v ohybu spojujícím tyto dva helixy setkávají postranní řetězce hydrofobních aminokyselin⁹. Tyto interakce vedou ke snížené flexibilitě dané struktury a brání tak přizpůsobení štěpných míst interakcím s proteasou. Helixy G a H v lidském β -globinu žádnou podobnou interakcí stericky neumožňují, pravděpodobně také proto se může preferenční místo hydrolýzy trypsinem nacházet v helixu H (Lys132-Val133) a relativní intenzita signálu nejstabilnějšího fragmentu tohoto polypeptidu nedosahuje srovnatelných hodnot.

Hydrolýza α -řetězce lidského hemoglobinu pak probíhá tak, že zatímco fragmenty C-terminální části polypeptidu (vznikající odštěpením v oblasti Lys90-Val93) si zachovávají strukturální integritu po delší dobu, štěpitelná místa v úseku Val1-Lys90 jsou pro katalýzu snadno dostupná a vznikající peptidy jsou ihned štěpeny dále. K hydrolýze stabilních fragmentů dochází až po rozštěpení naprostě většiny ostatních (dostupných) štěpitelných míst.

Závěr

Metodou pulzní proteolýzy byla proměřena denaturační křivka lidského hemoglobinu v závislosti na koncentraci močoviny. Metoda se jeví jako jednoduchá a levná cesta k porovnání stability proteinů podobné délky, pročež ji lze doporučit zejména ke studiu enzymopatií, způsobených bodovými mutacemi a tedy expresí chybných proteinů. Velmi slibná je možnost využití pro nepurifikovaný protein, čímž se lze vyhnout časově i finančně náročným krokům přípravy vzorku.

Metoda limitované proteolýzy je opět velmi jednoduchá a poměrně levná. Poskytuje cenné informace o vlivu aminokyselinového složení na strukturu proteinu a jeho stabilitu, kdy záměna jedné aminokyseliny může vést například k zeslabení či zesílení nekovalentních interakcí mezi doménami a tudíž ke změně pohyblivosti a snížené funkci mutantního proteinu. Metoda může sloužit také jako doprovodné měření potvrzující výsledky strukturálních analýz.

Jedním z dalších metodických cílů je propojení obou metod, tzn. limitovaná proteolýza roztoků proteinu v koncentrační řadě denaturačního činidla, které i přes očekávané problémy s interpretací slibuje poměrně komplexní informaci o vlastnostech struktury analyzovaného proteinu.

LITERATURA

1. Park C., Marqusee S.: *Nat. Methods* 2, 207 (2005).
2. Rossi-Fanelli A., Antonini E., Caputo A.: *Biochim. Biophys. Acta* 30, 608 (1958).
3. Kodíček M., Vodrážka Z.: *Collection. Czechoslov. Chem. Commun.* 41, 1811 (1976).
4. Hubbard S. J.: *Biochim. Biophys. Acta* 1382, 191 (1998).
5. Park C., Marqusee S.: *J. Mol. Biol.* 343, 1467 (2004).
6. Kery V., Poneleit L., Kraus J. P.: *Arch. Biochem. Biophys.* 355, 222 (1998).
7. Fontana A., Polverino de Laureto P., De Filippis V., Scaramella E., Zamboni M.: *Folding Des.* 2, 17 (1997).
8. http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-002_v1/ebook.obsah.htm, staženo 11. září 2009.
9. <http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=1HGA>, staženo 11. září 2009.

V. Jurga and M. Kodíček (*Department of Biochemistry and Microbiology, Institute of Chemical Technology, Prague*): **Limited and Pulse Proteolysis of Human Hemoglobin**

Using the title methods, the denaturation of human hemoglobin and its subunits was studied, the ultimate goal being to assess the applicability of both methods in research on pathogenic protein mutations. Pulse proteolysis affords a denaturation curve of hemoglobin; the method is easy to perform showing good repeatability and low sample consumption. Using the limited proteolysis followed by MALDI-TOF MS, we studied proteolytic resistance of fragments of α - and β -globin chains. Despite their nearly identical structure, the differences in amino acid compositions of both polypeptides affect the conformational stability of their tryptic products. Both methods are able to provide valuable information on protein stability, their main advantage being low cost and simplicity.

POLYSACHARIDOVÉ KOMPLEXY DŘEVNÍCH HUB RODŮ *Phellinus*

A *Inonotus*

MIROSLAV NOVÁK, ANDRIY SYNYTSYA,
ANEŽKA VESELÁ, GORDON K. GOMBA
a JANA ČOPIKOVÁ

Ústav chemie a technologie sacharidů, Vysoká škola chemicko technologická v Praze, Technická 1905, 166 28 Praha 6

Miroslav.Novak@vscht.cz

Došlo 7.1.09, přepracováno 3.8.09, přijato 6.8.09.

Klíčová slova: dřevní houby, glukánové komplexy, termická analýza, FTIR

Úvod

Dřevní houby jsou významnou součástí lesních ekosystémů, protože tato skupina organismů disponuje unikátními lignolytickými enzymy, které jsou nezbytné pro rozklad dřevní hmoty a koloběh uhlíku v přírodě. Kromě těchto enzymů ovšem produkují dřevní houby i řadu makromolekulárních látek, zejména polysacharidů, které jsou potenciálně použitelné jako součást farmak v medicíně. Houby rodů *Phellinus* (ohňovec) a *Inonotus* (rezavec) (*Basidiomycota*, *Hymenochaetales*) působí tzv. bílou hnilobu dřeva listnáčů i jehličnanů. Jednotlivé druhy se liší parazitickým nebo saprofytickým způsobem života. U parazitických druhů je dřevní hmota rozkládána ve velkém objemu v celém průřezu kmene. Na napadených stromech se vytvářejí charakteristické nápadné plodnice, zpravidla kopytovitého tvaru – nesprávně označované „choroše“ (skutečný choroš – *Polyporus* – vytváří plodnice poněkud odlišného tvaru).

Z hlediska medicíny jsou tyto houby zkoumány pro svůj obsah biologicky aktivních látek. Houby obecně jsou významným zdrojem látek fyziologicky aktivních, neboť produkují široké spektrum sekundárních metabolitů se zajímavými biologickými aktivitami představující potenciální zdroj různých léčivých látek, a dřevní houby rodu *Phellinus* a *Inonotus* mezi léčivými houbami zaujímají významné místo. Rod *Phellinus* zahrnuje řadu druhů, z nichž mnohé se po řadu století používají v asijské medicíně. *Phellinus igniarius* (L.: Fr) Quel (ohňovec obecný) se využívá v tradiční čínské medicíně pod názvem „sanghuang“ (žlutý choroš)¹, *Phellinus linteus* se používá při léčení různých chorob – k léčbě rakoviny gastrointestinálního traktu, kardiovaskulárních chorob, tuberkulózy, chorob jater a srdce, hnisavých ran, bolestí žaludku, gonorrhoe a diabetu^{2–8}. U výtazku získaného extrakcí *Phel-*

linus linteus horkou vodou byly potvrzeny výrazné protirakovinné a imunomodulační účinky⁷. Imperfektní plodnice rezavce šikmého (*Inonotus obliquus*), parazitujícího převážně na břízách, které pod názvem „čaga (chaga)“ jsou používány jako kancerostatikum v lidové medicíně, obsahují velká množství polycyklických sloučenin, majících významný antioxidační efekt⁹, a rovněž spektrum imunostimulačních fyto-sloučenin s antimutagenními a cytotoxickými účinky¹⁰, převážně polysacharidů typu β -glukanů¹¹.

Obecně nejvýraznější projevy biologické aktivity rodů *Phellinus* a *Inonotus* jsou přičítány obsahu proteoglykanů a homo- či heteropolysacharidů. Existuje řada studií, týkající se izolace a biologické aktivity polysacharidů získaných z těchto léčivých hub^{12–14}.

Poměrně dobře prozkoumaný je acidický proteoheteroglykan s velikostí asi 150 kDa (cit.¹⁵), izolovaný z *Phellinus linteus*, obsahující mannosu, galaktosu, glukosu, arabinosu a xylosu, jak bylo dokázáno NMR spektroskopii¹⁶; v polysacharidové části se vyskytují jak vazby α , tak β . Tato látka vyvolává sekreční a buněčnou odezvu u makrofágů, i když mechanismy, kterými reguluje funkce makrofágů, jsou dosud nejasné. Nicméně bylo zjištěno, že její působení na myší peritoneální makrofágy *in vitro* i *in vivo* dramaticky zvyšuje produkci NO (cit.¹⁷) produkovaného inducibilní syntasou oxidu dusnatého (iNOS), jejíž syntéza je spouštěna navázáním polysacharidu na receptor makrofágu. Produkovaný oxid dusnatý působí cytotoxicky na nádorové buňky (viz např. cit.^{18,19}) a má výrazný antimikrobiální účinek na řadu patogenů^{20,21} ovšem na druhé straně působí poškození tkání a DNA²² a ve vysokých koncentracích může působit septický šok²³.

Kyselé polysacharidy z *Phellinus linteus* jsou známy jako stimulatory proliferace T-lymfocytů, polyklonální aktivátory B-lymfocytů a jako inhibitory růstu a metastáz tumorů. Rovněž aktivují fagocytující dendritické buňky. Podání těchto polysacharidů vede nejenom k tvorbě morfologicky zralých dendritických buněk, ale indukuje i predominantní migraci těchto buněk do lymfoidních tkání²⁴.

Některé polysacharidy z hub rodu *Phellinus* vykazují hypoglykemické účinky, které byly rovněž podrobeny zkoumání. Nečištěný extrakt z *Phellinus baumii*, obsahující dva rozdílné heteropolysacharidy a dva proteoglykany, vykazoval výrazný antidiabetický efekt u myši a předpokládá se jeho možná aplikace při léčbě diabetes mellitus²⁵.

Mezi nejúčinnější – a také nejvíce prozkoumané – polysacharidy obsažené v houbách rodů *Phellinus* a *Inonotus*, náležejí β -glukany. Jako β -glukany jsou označovány homopolymery glukosy s lineární molekulou obsahující (1 \rightarrow 3)- β -D-glykosidové vazby, případně s větvenou molekulou, obsahující navíc ještě postranní řetězec, vázaný (1 \rightarrow 6)- β -D-glykosidovými vazbami. Účinkům fungálních β -glukanů je věnován bezpočet studií (viz např. cit.²⁶). Nejvýrazněji se účinek β -glukanů projevuje zvýšením fagocytární a proliferativní aktivity profesionálních fagocytů, tedy neutrofilních granulocytů, monocytů, makrofágů a dendritických buněk; nejvýrazněji se v tomto směru uplatňují makrofágy^{27–29}. Hlavní imunofarmakologické

aktivity β -glukanů zahrnují zvýšení rezistence hostitele vůči virovým³⁰, bakteriálním^{31,32}, fungálním a parazitickým infekcím³³, protinádorový efekt a prevenci karcinogeneze^{20,34,35}, a také radioprotektivní účinky^{36–38}. Významný je prokázáný účinek hub daný obsahem β -glukanů na snižování hladiny sérového cholesterolu a jaterního lipoproteinu s nízkou hustotou (LDL)^{39–41}, vedoucí ke snižování rizika aterosklerózy a onemocnění srdce; nestravitelné β -glukany představující významnou složku hub mohou rovněž modulovat mukosální imunitu střevního traktu⁴².

Sumárně lze tedy říci, že houby rodů *Phellinus* a *Inonotus* jsou významnými producenty biologicky aktivních látek s řadou výrazných léčebných účinků a jejich zkoumání, včetně izolace a identifikace těchto látek, může přinést zajímavé, prakticky využitelné výsledky. Cílem této práce bylo popsat pomocí metod strukturní a termické analýzy komplexní polysacharidy s převážným obsahem β -glukanů, vyskytující se v těchto houbách.

Experimentální část

Použité suroviny a chemikálie

Plodnice sledovaných hub byly získány sběrem v lokalitách v Čechách, na Moravě a na Slovensku a jsou uchovávány v herbáři Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně (BRNL). Analyzované druhy, spolu s místem původu a hostitelskými dřevinami, jsou uvedeny v tabulce I.

Celulosa (prášková celulosa, Aldrich) a β -glukan z pekařského droždí (*Saccharomyces cerevisiae*, Fluka) byly zvoleny jako porovnávací vzorky.

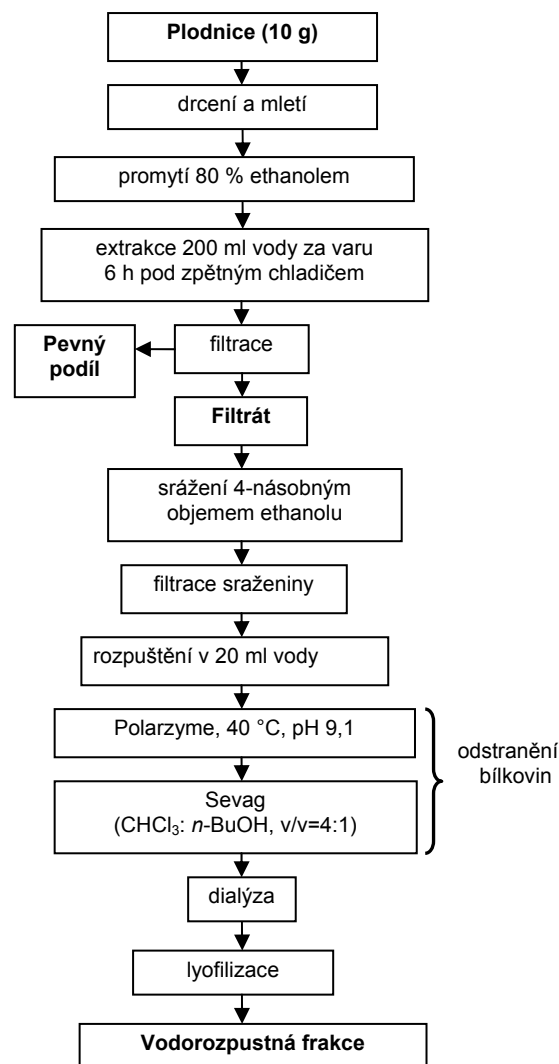
Vodorozpustné polysacharidy byly z plodnic extrahovány postupem uvedeným na obr. 1; odstranění balastních bílkovin bylo provedeno směsí proteinas Polarzyme a činidlem Sevag (CHCl_3 : *n*-BuOH, *v/v* = 4:1).

Analytické metody

Obsah monosacharidů byl stanoven po hydrolyze izolovaných vodorozpustných frakcí 3 M kyselinou trifluoroctovou (1 h/110 °C) vysokoúčinnou aniontovou výměnnou chromatografií s pulzní amperometrickou detekcí (HPAEC-PAD). Modulární chromatografický systém Dionex BIO LC byl osazen předkolonou 2 × 50 mm CarboPac

PA1 a analytickou kolonou 2 × 250 mm CarboPac PA1 (Dionex Corporation, USA), jako eluent byl použit 16 mM NaOH, průtoková rychlost byla 0,25 ml min⁻¹.

α -Glukany a β -glukany byly stanoveny enzymovou metodou (set KYBGL 10/2005, Megazyme International,



Obr. 1. Schéma extrakce a čištění vodorozpustných polysacharidů z plodnic dřevních hub

Tabulka I

Analyzované plodnice hub a místa jejich sběru

Druh	Lokalita	Hostitelská dřevina
<i>Inonotus obliquus</i> 991	Třeboňsko, NPR Červené bláto, ČR	bříza (<i>Betula sp.</i>)
<i>Phellinus alni</i> 857	NP Pieniny, Slovensko	olše (<i>Alnus incana</i>)
<i>Phellinus alni</i> 885	Moravský kras, PR U Výpůstku, ČR	habr (<i>Carpinus betulus</i>)
<i>Phellinus chrysoloma</i> 879	Moravský kras, NPR Vývěry Punkvy, ČR	smrk (<i>Picea abies</i>)

Irsko).

FTIR spektra ($4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$) byla měřena v KBr tabletách na spektrofotometru Nicolet 6700 (Thermo Scientific, USA); počet skenů 64, rozlišení 2 cm^{-1} . Spektra byla zpracována softwarem Omnic 7.0 (Thermo Scientific, USA).

Diferenciální skenovací kalorimetrie (DSC) byla prováděna na přístroji DSC 131 (Setaram, Francie) v proudu N_2 . Rychlost záhřevu byla $10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$, teplotní rozmezí $20\text{--}700\text{ }^\circ\text{C}$. Tento přístroj pracuje na principu diferenční termoanalýzy (DTA).

Termogravimetrická měření (TGA) byla prováděna na přístroji Pyris 1 TGA (Perkin Elmer, USA) v proudu N_2 . Rychlost záhřevu byla $10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$, teplotní rozmezí $30\text{--}900\text{ }^\circ\text{C}$.

Obsah vody ve vzorcích byl stanoven metodou Karl Fischera (AF 8, Orion Research Inc., USA).

Analytické údaje představují průměrné hodnoty ze 3 stanovení.

Výsledky a diskuse

Vodorozpustné frakce, získané z plodnic zmíněných dřevních hub, byly podrobeny analýzám s cílem blíže objasnit složení a strukturu izolovaných polysacharidů. Byl sledován obsah základních monosacharidových jednotek a charakter glykosidové vazby, průběh termální dekompozice a změřena FTIR spektra. K FTIR spektrům vodorozpustných frakcí, která umožňují kromě identifikace přítomných polysacharidů i identifikaci doprovodných látek, byla pro srovnání proměřena spektra původních plodnic a pevných zbytků po izolaci vodorozpustných podílů.

Obsah α - a β -glukanů v plodnicích zjištěný enzymovou metodou je uveden v tabulce II. Je patrné, že obsah α -glukanů je nejvýznamnější u extraktu z plodnice *I. obliquus* 991, kde tvoří téměř třetinu celkového obsahu glukanů, zatímco v ostatních vzorcích významně převažují β -glukany a obsah α -glukanů se pohybuje kolem 6 % sumy glukanů. Tento rozdíl v zastoupení jednotlivých glukanů by mohl být vysvětlen anatomickou strukturou imperfektní plodnice *I. obliquus*, tvořící nepohlavní chlamyospóry, odlišnou od plodnic ostatních druhů tvořících pohlavní bazidiospóry.

Tabulka II

Obsah α - a β -glukanů v plodnicích dřevních hub rodů *Phellinus* a *Inonotus*

Druh	Obsah [% v sušině]		Sušina [%]
	α -glukany	β -glukany	
<i>Inonotus obliquus</i> 991	2,1	5,2	88,7
<i>Phellinus alni</i> 857	0,8	12,1	88,4
<i>Phellinus alni</i> 885	0,7	11,7	87,0
<i>Phellinus chrysoloma</i> 879	0,9	13,8	90,3

Tabulka III

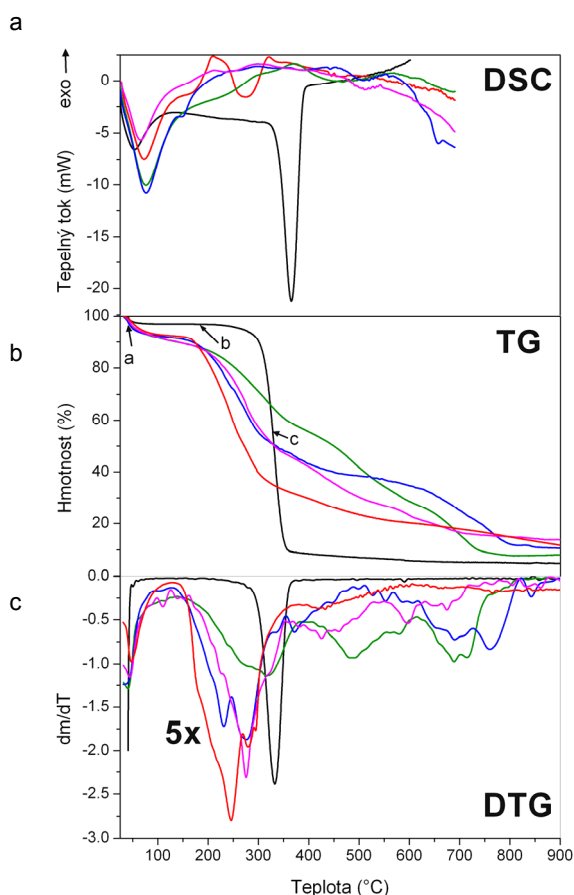
Monosacharidové složení kvasničného β -glukanu a vodorozpustných frakcí izolovaných z plodnic dřevních hub rodů *Phellinus* a *Inonotus*

Polysacharid/ frakce	Molární poměr [%]					
	Glc	GlcN	Gal	Ara	Man	Xyl
Kvasničný β -glukan	98,4	0	0	0	1,7	0
<i>Inonotus obliquus</i> 991	53	2	15	7	8	16
<i>Phellinus alni</i> 857	44	1	26	2	21	6
<i>Phellinus alni</i> 885	45	2	30	2	17	5
<i>Phellinus chrysoloma</i> 879	48	2	27	2	17	5

V tab. III je uvedeno monosacharidové složení kvasničného β -glukanu a hydrolyzátů izolovaných vodorozpustných frakcí plodnic. Je zřejmé, že ve vodorozpustných frakcích zdaleka nejsou přítomny pouze glukany, ale že jde o směs polysacharidů s různým zastoupením monosacharidových jednotek, což je v souladu s většinou literárních odkazů. Na základě výsledků uvedených v tab. III není možné vyvodit absolutní závěry, avšak je zřejmé, že polysacharidy z vodného extraktu *I. obliquus* obsahují podstatně více arabinoxylanů ve srovnání s polysacharidy získanými stejným postupem z plodnic *Phellinus sp.*

Jednou z možností, jak charakterizovat polysacharidy, je využití metod termické analýzy. Na obr. 2 (horní panel) jsou naměřené DSC křivky vodorozpustných frakcí kmenů *Inonotus obliquus* a *Phellinus alni*. Vzhledem k předpokladu, že vodorozpustná frakce je tvořena převážně β -glukany, byly změřeny jako standardy také křivky celulosy a β -glukanu izolovaného z kvasnic. Charakteristické teploty zjištěné pomocí DSC jsou shrnuty v tab. IV. Křivky všech vzorků měly při teplotách do $140\text{ }^\circ\text{C}$ podobný průběh. Endotermický děj s minimem v rozmezí $55\text{ až }75\text{ }^\circ\text{C}$ odpovídá odstranění vlhkosti⁴⁴ a změnám terciární struktury polymerů⁴⁵. Křivka celulosy, která má známou a orientovanou strukturu, vykazuje ostrý endotermní pík s minimem při $365\text{ }^\circ\text{C}$, který odpovídá fragmentaci polysacharidového řetězce ($\beta(1\text{--}4)\text{-D-glukanu}$). Kvasničný β -glukan, který má větvenou strukturu ($\beta(1\text{--}3), (1\text{--}6)\text{-D-glukan}$), se rozkládá proti celulose při nižší teplotě a křivka vykazuje exo- a endotermní píky při $210, 275$ a $320\text{ }^\circ\text{C}$. Křivky DSC vodorozpustných podílů izolovaných z hub *Inonotus* a *Phellinus sp.* nad $77\text{ }^\circ\text{C}$ představují obálky termických pochodů, kde převažují exotermické tepelné efekty kolem $211, 300$ a $360\text{--}373\text{ }^\circ\text{C}$. Při teplotách nad $400\text{ }^\circ\text{C}$ již jednotlivé děje lze těžko identifikovat.

Na obr. 2 (střední panel) jsou naměřené termogravimetrické (TG) křivky; jejich interpretace je názornější z vypočtené 1. derivace (DTG) (obr. 2, dolní panel). Z TG a DTG křivek celulosy je zřejmé, že rozklad tohoto polysacharidu probíhá maximální rychlostí při teplotě $333\text{ }^\circ\text{C}$, což je v souladu s křivkou DSC (obr. 2, horní panel), ze



Obr. 2. DSC, TG a DTG křivky celulosy (—), kvasničného β -glukanu (—) a vodorozpustných frakcí z plodnic dřevních hub (— *I. obliquus* 993; — *P. alni* 857; — *P. alni* 885). Na TG grafu jsou označeny oblasti sušení (a), tepelné stability (b) a nejvyšší rychlosti rozkladu (c)

které je zřejmé, že tento rozklad končí kolem teploty 370 °C (tab. IV). Vzorek β -glukanu představuje poměrně čistý polysacharid, ovšem s méně uspořádanou strukturou ve srovnání s celulosou; oproti ní se postupně rozkládá při třech teplotách 246, 282 a 295 °C a uvolňování těkavých látek rovněž končí kolem teploty 370 °C. Mnohem složitější je tepelný rozklad vodorozpustných frakcí izolovaných z *I. obliquus* a *P. alni* (obr. 2, tab. IV). Postupné uvolňování těkavých složek probíhá při šesti, resp. sedmi teplotách a je ukončeno při teplotě nad 700 °C. Endotermní děje mezi teplotami 200 až 370 °C přísluší termickému rozkladu polysacharidů, v teplotním rozmezí 400 až 600 °C se rozkládají látky obsahující aromatické struktury^{44,46}. Nad 600 °C dochází k úplné pyrolyze⁴⁷. Komplikovaný rozklad je důkazem toho, že izolované frakce ze sledovaných hub nejsou čisté polysacharidy, což potvrzují i FTIR spektra. Pevný zbytek při 900 °C byl nejnižší u celulosy a nejvyšší u *P. alni* 885. Je možné shrnout, že křivky naměřené termickou analýzou u polysacharidových frakcí dokládají, že ve vodných extraktech jsou, kromě aromatických složek, přítomny i další polysacharidy, jiné než β -glukany. To samozřejmě vyplývá i z obsahu stanovených monosacharidů po hydrolýze (tab. III).

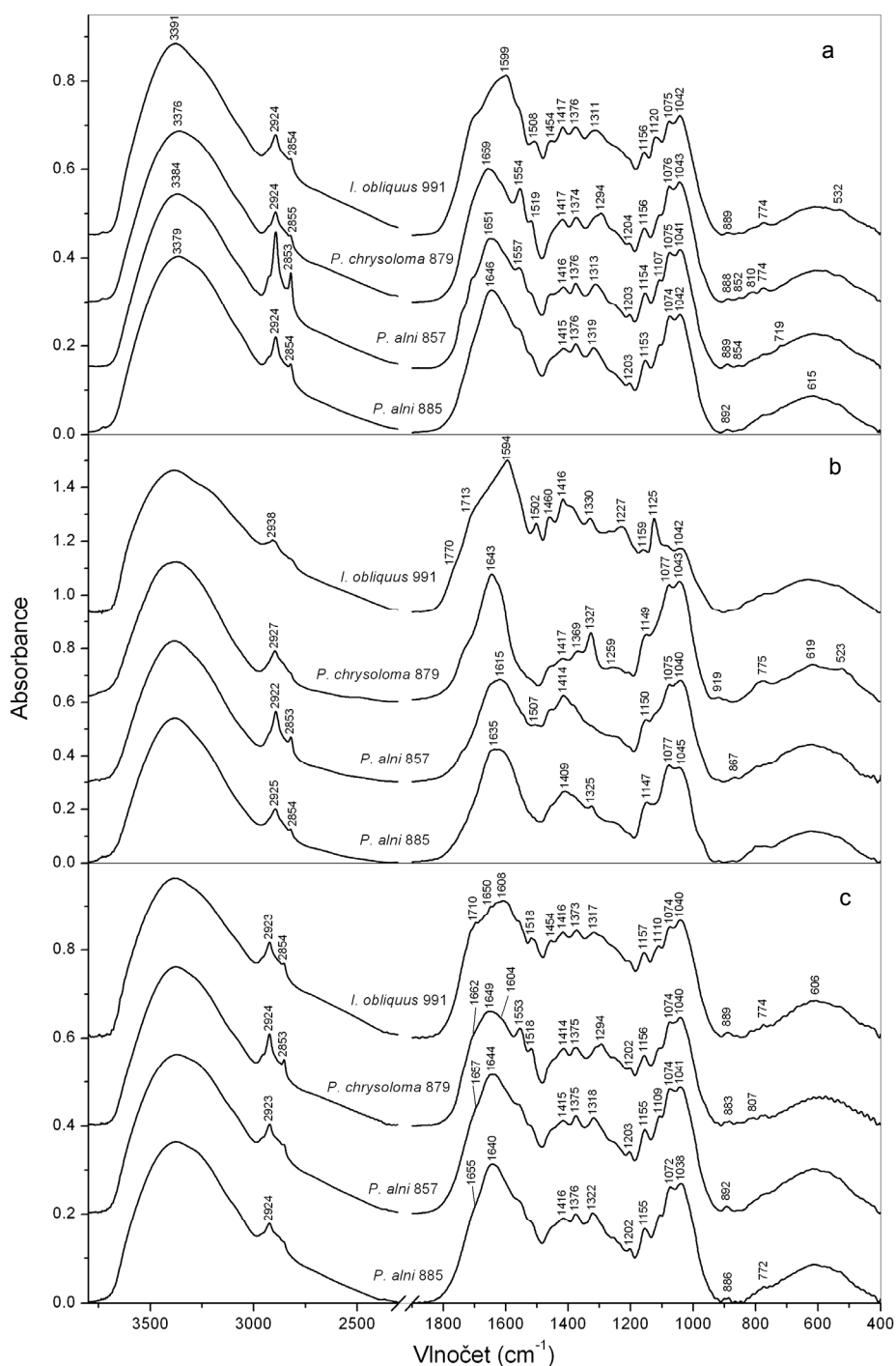
Na obr. 3 jsou FTIR spektra plodnic hub rodů *Phellinus* a *Inonotus* (obr. 3a), vodorozpustných frakcí (obr. 3b) a pevných podílů (obr. 3c) získaných z těchto plodnic. Spektra pevných podílů jsou podobná spektrům plodnic, což potvrzuje, že vodorozpustný podíl obsahuje pouze minoritní složky a většina polysacharidového komplexu je ve vroucí vodě nerozpustná. Široký pás okolo 3370 až 3390 cm^{-1} nalezený u všech spekter byl přiřazen valenčním vibracím vazeb OH, dva úzké pásy okolo 2922 až 2925 cm^{-1} a 2853–2955 cm^{-1} valenčním vibracím skupin CH_2 a ramena kolem 2958–2960 cm^{-1} a 2874 cm^{-1} valenčním vibracím skupin CH_3 . Všechna spektra mají výrazné pásy v oblasti valenčních vibrací karboxylových skupin (1800–1500 cm^{-1}). Tyto pásy se vzájemně překrývají a není snadné určit jejich maxima ve spektrech. Proto byla v řadě případů použita minima 2. derivací spekter, která ukázala vlnočty odpovídající ramenům: 1773 cm^{-1}

Tabulka IV

Výsledky termické analýzy celulosy, kvasničného β -glukanu a vodorozpustných frakcí izolovaných z plodnic dřevních hub rodů *Phellinus* a *Inonotus*

Polysacharid/ frakce	Teplota [°C]										Pevný zbytek [%] ^a		
	DSC píky				DTG píky								
celulosa	55			365				333				5	
kvasničný β -glukan	74	210	275	320	246	282	295					11	
<i>Inonotus obliquus</i> 991	77			373				317	390	490	580	715	8
<i>Phellinus alni</i> 857	66		301	359	230	276		372	553	690	760	11	
<i>Phellinus alni</i> 885	77	211	300	361		275		426	597	675		14	

^a při 900 °C



Obr. 3. FT-IR spektra plodnic dřevních hub (a), vodorozpuštěných frakcí (b) a pevných podílů (c)

(valenční vibrace C=O karboxylových dimerů), 1740 cm⁻¹ (valenční vibrace C=O esterů), 1711–1713 cm⁻¹ (valenční vibrace C=O karboxylů), 1659–1662 cm⁻¹ (valenční vibrace skupin C=O amidů), 1637–1645 cm⁻¹ (deformační vibrace vody), 1592 až 1615 cm⁻¹ (asymetrická valenční vib-

race COO⁻), 1546 až 1552 cm⁻¹ (deformační vibrace skupin NH amidů) a 1502 až 1516 cm⁻¹ (valenční vibrace vazeb C=C aromatických látek). Ramena kolem 1454 a 1466 cm⁻¹ ukazují na rovinnou deformaci skupin CH₂ resp. lipidů a polysacharidů. Dalším důkazem přítomnosti

lipidů je rameno či pás při 719–721 cm^{-1} (kyvadlová vibrace skupin CH_2). Lipidové pásy jsou nejvýraznější u plodnic *P. alni* 857. Pás okolo 1409–1418 cm^{-1} lze přiřadit symetrické valenční vibraci COO^- . Uvedené přiřazení pásů ukazuje na přítomnost bílkovin, případně chitinu, lipidů, aromatických látek a organických kyselin. Spektra plodnic rodu *Phellinus* a jejich pevné podíly mají široký pík při 1640–1659 cm^{-1} , který je obálkou příspěvku amidu I a deformační vibrace vody; pík s maximem kolem 1615 až 1643 cm^{-1} u všech vodorozpustných frakcí z těchto plodnic rodu *Phellinus* ukazuje na výrazný příspěvek valenční asymetrické vibrace karboxylátů ($\sim 1600 \text{ cm}^{-1}$). V případě *I. obliquus* 991 je tento pík posunutý na 1594 až 1608 cm^{-1} , což ukazuje na větší množství karboxylových skupin. Navíc jsou přítomna široká ramena kolem 1770 cm^{-1} a 1710–1713 cm^{-1} , která ukazují na přítomnost volných karboxylových skupin.

Spektra všech plodnic, všech pevných podílů a vodorozpustných frakcí pouze z plodnic rodu *Phellinus* mají výraznou oblast CO a CC vibrací (1200–950 cm^{-1}), což ukazuje na přítomnost polysacharidů. Spektrum vodorozpustné frakce z *I. obliquus* 991 má tuto oblast méně výraznou než karboxylovou; poloha jednotlivých pásů a jejich relativní intenzita jsou také odlišné. Spektrum plodnice tohoto druhu má pás kolem 1120 cm^{-1} , ostatní spektra plodnic měla pík či rameno kolem 1109–1112 cm^{-1} . Tento rozdíl lze vysvětlit příspěvkem složky, pravděpodobně polysacharidu, která se projevuje ve vodorozpustném podílu píkem při 1125 cm^{-1} . Pevný podíl z *I. obliquus* 991 už tuto látku neobsahuje a má polysacharidový pás při 1110 cm^{-1} . Pásky při 1072–1077 cm^{-1} a 1038–1045 cm^{-1} na spektrech plodnic a pevných podílů jsou typické pro fungální $\beta(1\rightarrow3), (1\rightarrow6)$ -glukany. Tyto pásy byly nalezeny také ve spektrech vodorozpustných frakcí z plodnic rodu *Phellinus*. Pás COC valenční vibrace glykosidových vazeb okolo 1147–1150 cm^{-1} ukazuje na přítomnost $\alpha(1\rightarrow3)$ -glukanu v těchto frakcích. U $\beta(1\rightarrow3), (1\rightarrow6)$ -glukanů je pás COC posunut přibližně o 10 cm^{-1} směrem k vyšším vlnovým a byl nalezen u plodnic a pevných podílů při 1153–1157 cm^{-1} . Podle polohy slabých pásů v oblasti 900–850 cm^{-1} lze předpokládat, že plodnice a vodorozpustné frakce obsahují polysacharidy s vazbami α i β (cit.⁴³). U pevných podílů však podle pásu v oblasti 892 až 883 cm^{-1} lze předpokládat přítomnost β -polysacharidů jako hlavní polysacharidové složky, což by mohly být β -glukany a chitin.

Závěr

Vodné extrakty plodnic sledovaných dřevních hub obsahují jak α -, tak β -glukany. Plodnice *I. obliquus* obsahují mnohem více α -glukanů a naopak mnohem méně β -glukanů než plodnice druhů *Phellinu spp.* Hlavním neutrálním sacharidem ve všech sledovaných vzorcích je D-glukosa. Kromě ní byly nalezeny i D-mannosa a D-

galaktosa, což indikuje přítomnost heteroglykanů. Vodorozpustné frakce z *I. obliquus* ve srovnání s *Phellinus sp.* obsahují více D-xylosy a L-arabiny a méně D-mannosy a D-galaktosy. Oba rody tedy vykazují významné rozdíly ve složení obsažených vodorozpustných polysacharidů.

Infračervená spektra (FTIR) mj. poukazují na významné zastoupení karboxylových skupin, tj. na přítomnost uronových kyselin. Tomu odpovídá i převaha exotermních pochodů během termického rozkladu, což je vlastností polysacharidů obsahujících karboxylové skupiny (pektiny, algináty, karboxymethylcelulosa a oxidovaná celulosa). Kromě toho jsou přítomny pásy proteinů (amid I a II) a aromátů (C=C vibrace). FTIR spektra ukazují na přítomnost jak α -, tak β -vázaných polysacharidů, především glukanů, ve vodorozpustných podílech. Tyto polysacharidy však mají minoritní zastoupení v plodnicích na rozdíl od chitin-glukanového komplexu, který spolu s aromatickými polymery tvoří základ pevného podílu. Komplexnost vodorozpustných frakcí z plodnic *Phellinus* a *Inonotus spp.* potvrzují i výsledky termické analýzy (TGA a DSC), z nichž je patrná přítomnost aromatických složek.

Práce vznikla za podpory Grantové agentury České republiky, projekt č. 521/07/J039 a Výzkumného záměru Ministerstva školství mládeže a tělovýchovy, MSM 6046137305. Autoři článku děkují doc. RNDr. Michalovi Tomšovskému za cenné připomínky a Bc. Evě Kiliánové za pomoc při měření FTIR spekter.

LITERATURA

1. Song L., Sun P. L., Guo B. B.: *Edible Fungi of China* 24, 7 (2005).
2. Nakamura T., Matsugo S., Uzuka Y., Matsuo S., Kawagishi H.: *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 68, 868 (2004).
3. Cho J. H., Cho S. D., Hu H., Kim S. H., Lee S. K., Lee Y. S., Kang K. S.: *Carcinogenesis* 23, 1163 (2002).
4. Sutton D. A., Thompson E. H., Rinaldi M. G., Iwen P. C., Nakasone K. K., Jung H. S., Rosenblatt H. M., Paul M. E.: *J. Clin. Microbiol.* 43, 982 (2005).
5. Song K. S., Cho S. M., Lee J. H., Kim H. M., Han S. B., Ko K. S.: *Chem. Pharm. Bull.* 43, 2105 (1995).
6. Rew Y. H., Jo W. S., Jeong K. C., Yoon J. T., Choi B. S.: *Korean J. Mycol.* 28, 6 (2000).
7. Han S. B., Lee C. W., Jeon Y. J., Hong N. D., Yang K. H., Kim H. M.: *Immunopharmacol.* 41, 157 (1999).
8. Ajith T. A., Janardhanan, K. K. J.: *Ethnopharmacol.* 84, 157 (2003).
9. Lee I.-K., Kim Y.-S., Jang Y.-W., Jung J.-Y., Yun B.-S.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17, 6678 (2007).
10. Ham S.-S., Oh S.-W., Kim Y. K., Shin K. S., Chang H. Y., Chung G. H.: *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 32, 1088 (2003).
11. Rhee S. J., Chob S. Y., Kimb K. M., Chaa D.-S., Park H.-J.: *LWT - Food Sci. Technol.* 41, 545 (2008).

12. Vinogradov E., Wasser S. P.: Carbohydr. Res. 340, 2821 (2005).
13. Kim Y. O., Han S. B., Lee H. W., Ahn H. J., Yoon Y. D., Jung J. K., Kim H. M., Shin C. S.: Life Sci. 77, 2438 (2005).
14. Han S. B., Lee C. W., Kang J. S., Yoon Y. D., Lee K. H., Lee K., Park S. K., Kim H. M.: Int. Immunopharmacol. 6, 697 (2006).
15. Sutton D. A., Thompson E. H., Rinaldi M. G., Iwen P. C., Nakasone K. K., Jung H. S., Rosenblatt H. M., Paul M. E.: J. Clin. Microbiol. 43, 982 (2005).
16. Kim G. Y., Park H. S., Nam B. H., Lee S. J., Lee J. D.: Biores. Technol. 89, 81 (2003).
17. Kim G. Y., Oh Y. H., Park Y. M.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 309, 399 (2003).
18. Hibbs J. B. Jr., Taintor R. R., Vavrin Z.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 157, 87 (1988).
19. Stuehr D. J., Nathan C. F.: J. Exp. Med. 169, 1543 (1989).
20. Granger D. L., Hibbs J. B. Jr., Perfect J. A.: J. Clin. Invest. 81, 1129 (1988).
21. James S., Claven J.: J. Immunol. 143, 4208 (1989).
22. Billar T. R.: Ann. Surg. 221, 339 (1995).
23. Eiserich J. P., Patel R. P., O'Donnell V. B.: Molecul. Aspects Med. 19, 221 (1998).
24. Park S. K., Kim G. Y., Lim J. Y., Kwak J. Y.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 312, 449 (2003).
25. Hwang H. J., Kim S. W., Lim J. M., Joo J. H., Kim H. O., Kim H. M., Yun J. W.: Life Sci. 76, 3069 (2005).
26. Novák M.: Chem. Listy 101, 872 (2007).
27. Chihara G., Maeda Y. Y., Hamuro J., Sasaki T., Fukuoka F.: Nature 222, 687 (1969).
28. DiLuzio N. R.: Trends Pharmacol. Sci. 4, 344 (1983).
29. Quinn P. J.: Adv. Veter. Sci. Comp. Med. 35, 43 (1990).
30. Song M., DiLuzio N. R., v knize: *Lysosomes in Biology and Pathology*, (Dingle J. T., Jacques P. J., Shaw I. B., ed.), str. 533. Elsevier, Amsterdam 1979.
31. Saitô H., Ohki T., Takasuka N., Sasaki T.: Carbohydr. Res. 58, 293 (1977).
32. Hetland G., Lovik M., Wiker H. G.: Scand. J. Immunol. 47, 548 (1998).
33. Goldman R., Jaffe C. L.: Parasite Immunol. 13, 137 (1991).
34. Sherwood E. R., Williams D. L., DiLuzio N. R.: Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol. 8, 157 (1986).
35. Ross G. D., Větvicka V., Yan J., Xia Y., Větvická J.: Immunopharmacol. 42, 61 (1999).
36. Patchen M. L., MacVittie T. J.: Int. J. Immunopharmacol. 7, 923 (1985).
37. Patchen M. L., MacVittie T. J.: J. Biol. Response Mod. 5, 45 (1986).
38. Baker W. H., Nold J. B., Patchen M. L., Jackson W. E.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 201, 180 (1992).
39. Fukushima M., Ohashi T., Fujiwara Y., Sonoyama K., Nakano M.: Exp. Biol. Med. (Maywood) 226, 758 (2001).
40. Bobek P., Ozdin L., Kuniak L.: Nahrung 40, 222 (1996).
41. Fukushima M., Nakano M., Morii Y. T., Fujiwara Y., Sonoyama K.: J. Nutr. 130, 2151 (2000).
42. Tsukada C., Yokoyama H., Miyaji C., Ishimoto Y., Kawamura H., Abo T.: Cell. Immunol. 221, 1 (2003).
43. Šandula J., Kogan G., Kačuráková M., Machová E.: Carbohydr. Polym. 38, 247 (1999).
44. Yang H., Yan R., Chen H., Lee D. H., Zheng C.: Fuel 86, 1781 (2007).
45. Kitamura S., Ozasa H., Hara C., Ukai S., Kuge T.: Thermochim. Acta 163, 89 (1990).
46. Som M. P., Lemée L., Amblè A.: Bioresour. Technol. 100, 4404 (2009).
47. Sevilla M., Fuertes A. B.: Carbon 44, 468 (2006).

M. Novák, A. Snytytsya, A. Veselá, G. K. Gomba, and J. Čopíková (Department of Carbohydrate Chemistry and Technology, Institute of Chemical Technology, Prague): **Structural Investigation of Glucan Complexes Isolated from *Phellinus* and *Inonotus* Wood Fungi**

The structure of glucan complexes isolated from fruit bodies of medicinal white-rot fungi *Phellinus* and *Inonotus* spp. was investigated. Water-soluble fractions contained α - and β -glucans, glucose and other sugars (mannose, galactose, xylose and arabinose). FTIR spectra confirmed the presence of α - and β -polysaccharides (mostly glucans), uronic acids, some proteins and aromatic compounds. The water-soluble fractions of the *Inonotus* fruit bodies were structurally different from those of *Phellinus* sp. Water-soluble polysaccharides constituted only a minor part of the fruit bodies, while a chitin – glucan complex together with aromatic polymers made the basis of insoluble cell-wall residues. Complex structure of the water-soluble fractions was also investigated by TGA and DSC.

PRÍPRAVA A VYUŽITIE KOMBINOVANÝCH ADSORBENTOV NA ZEOLITOVEJ BÁZE PRI ODSTRAŇOVANÍ OXY- ANIÓNOVÝCH POLUTANTOV Z VÔD

LENKA SABOVÁ^a, EVA CHMIELEWSKÁ^a
a KATARÍNA GÁPLOVSKÁ^b

^a Katedra ekoszológie a fyziotaktiky, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislave, Mlynská dolina, 842 15 Bratislava 4, ^b Chemický ústav, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislave, Mlynská dolina, 842 15 Bratislava 4
saboval@fns.uniba.sk

Došlo 11.3.09, upravené 24.6.09, prijaté 17.9.09.

Kľúčové slová: adsorpcia, oxyanióny, zeolit, alginát

Úvod

Prírodné zeolity sú hydratované hlinítokremičitany, ktoré sa vyznačujú schopnosťou sorpcie kationov ťažkých kovov z vodných roztokov. Tie sú na zeolite imobilizované dvomi mechanizmami – iónovou výmenou a chemisorpciou¹. Pri úprave vôd plnia zeolity vo svojej natívnej – nemodifikovanej forme na základe vyššie spomínanej vlastnosti funkciu katexov, ktorá však nie je postačujúca pri riešení komplexnejšieho problému najmä s odpadovými vodami. Jeden z týchto problémov predstavujú aj anorganické aniónové polutanty (napr. dusičnany a sírany), ktoré sa vo zvýšenej koncentrácii dostávajú do prírodných vôd hlavne v dôsledku intenzívnej priemyselnej a poľnohospodárskej činnosti. V nadmerných množstvách sú tieto oxyanióny toxické nielen pre vodné ekosystémy, ale aj pre človeka². Problematike úpravy znehodnotených vôd spomínanými aniónmi sa preto neustále venuje veľká pozornosť^{3–5}.

Jednou z konvenčných metód, využívaných v praxi na úpravu špecificky znečistených vôd, je aj adsorpcia, ktorá kladie dôraz na vysoký reakčný povrch rôznych materiálov. Literatúra o čistení odpadových vôd adsorpciou technológiou je veľmi rozsiahla. Medzi najvyužívanejšie adsorbent patrí až doteraz aktívne uhlie, ktoré použil Huang⁶ v roku 1984 pri sorpcii arzeničnanov. Ďalšie aplikácie adsorbentov boli popísané v prácach Peaka^{7,8}, ktorý objasnil mechanizmus adsorpcie oxyaniónov selénu na oxidoch železa a hliníka. Okrem spomínaných adsorbentov sa potvrdila schopnosť adsorpcie anorganických aniónov aj na prírodných zeolitoch modifikovaných organickým tenzidom^{9–11}, ako aj modifikovaných íloch^{12,13}.

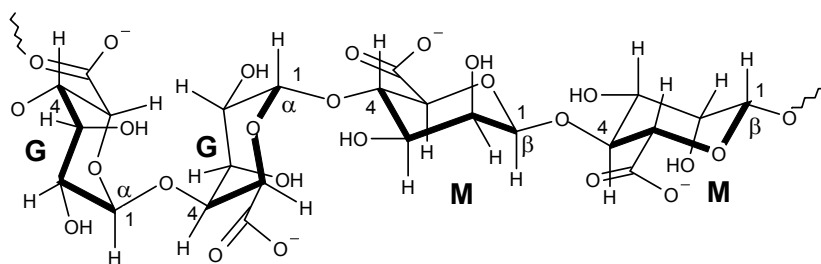
V súčasnosti sa výskum zameriava na výrobu a využitie kombinovaných, resp. kompozitných adsorbentov, ktoré znásobujú vhodné (napr. adsorpčné) vlastnosti pôvodných komponentov¹⁴, čím sa finálny produkt stáva zaujímavejším a lepšie využiteľným pre cieľovú oblasť. Príprava produktov s modifikovanými vlastnosťami sa uskutočňuje prevažne „mokrymi“ chemickými postupmi ako sú napr. sôl-gélové metódy¹⁵, povrchová impregnácia alebo imobilizácia biopolymérnych látok¹⁶.

Sôl-gélové metódy patria už takmer k tradičným spôsobom prípravy adsorbentov, ktorých výhody spočívajú predovšetkým v jednoduchosti prípravy a rýchlej možnosti získania finálnych materiálov s požadovanými vlastnosťami. Tento spôsob je aplikovateľný pri príprave vysoko pórovitých materiálov¹⁷, ale aj nanokompozitných adsorbentov¹⁸, do ktorých môžu byť počas sôl-gélového procesu zabudované požadované funkčné skupiny v podobe nových adsorpčných centier.

V odbornej literatúre sa v poslednom období uprednostňujú metódy povrchovej impregnácie ako spôsoby funkcionalizácie materiálov a prípravy kombinovaných adsorbentov. Vo väčšine prípadov ide o fyzikálne (coating), resp. chemické (grafting) zakotvenie organického substrátu na anorganický nosič. Takéto syntézy kombinovaných adsorbentov na báze anorganického materiálu (siliky) a organickej zložky (β -cyklodextrínu) pomocou spomínaných metód aplikoval Phan¹⁹. Okrem uvedených spôsobov sa využívajú aj iné pokročilé techniky. Jednou z nich je technika tzv. molekulárnych resp. iónových odťahkov (imprinting), ktorá je založená na inkorporovaní špecifických funkčných skupín, čím vznikajú aktívne centrá pre špecifickú sorpciu polutantov²⁰.

V poslednom čase sa záujem o syntézu nových, nízkonákladových adsorbentov pre úpravu vôd s využitím biopolymérnych látok neustále zvyšuje. Adsorbent možno považovať za cenovo prístupný, resp. nízkonákladový, ak nevyžaduje náročné spracovanie. Preto väčšinou ide o materiály dostupné v prírode, alebo vedľajšie produkty (prípadne odpadové materiály) z priemyselnej alebo poľnohospodárskej činnosti²¹. Práve biopolyméry predstavujú cenovo dostupné, na funkčné skupiny bohaté²² prírodné látky, ktoré môžu obohatiť zeolitový nosič vďaka svojim výborným adsorpčným vlastnostiam²³. Okrem zvýšenej adsorpčnej kapacity kombinovaného adsorbenta môže byť výsledkom funkcionalizácie zeolitu biopolymérom aj zmena hydrofilnosti zeolitového povrchu, zníženie abrazívnosti a celkové zlepšenie fyzikálno-mechanických vlastností produktu.

Výnimočne postavenie z hľadiska adsorpcie majú medzi biopolymérmí predovšetkým algináty. V kombinovaných adsorbentoch zvyšujú účinnosť odstraňovania kationov ťažkých kovov^{24,25}, ako aj aniónových polutantov²⁶ a organických látok²⁷ z vodných roztokov. Všestrannosť využitia tohto polysacharidu pri úprave vôd vychádza pravdepodobne z jeho chemickej štruktúry (obr. 1) a schopnosti formovať v prítomnosti dvojmocných kationov²⁸ vo vode nerozpustné gély.



Obr. 1. Chemická štruktúra manurónových (M) a glukurónových (G) zvyškov kyselín viazaných v algináte

Interakcie s dvojmocnými kationmi (napr. Ca^{2+}) vo vodných roztokoch sa využívajú pri syntéze kombinovaných adsorbentov vo forme alginátových granúl (peliet). V tejto forme pripravil kombinovaný adsorbent Park a spol.²⁵, ktorý odstraňoval súčasne kationy ťažkých kovov (Pb^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} a Cu^{2+}) a organické polutanty. Kombináciou polysacharidu alginátu a aktívneho uhlia pripravil kompozit s vyššou sorpčnou kapacitou voči zvoleným polutantom, než akú mali jednotlivé komponenty samostatne.

Keďže konvenčné spôsoby úpravy vôd často nedosahujú dostatočnú účinnosť čistenia a navyše sú finančne nákladné, nahrádzajú sa v poslednej dobe novými, prípadne doplnkovými postupmi, ktoré sú prijateľnejšie ako tradičné postupy nielen z ekonomického, ale aj z environmentálneho hľadiska. Na základe bohatých ložiskových akumulácií prírodných zeolitov na východnom Slovensku a ich nízkej ceny sa naša práca orientovala na zušľachtenie vlastností tohto prírodného adsorbentu. Cieľom práce bola preto príprava kombinovaného adsorbentu na báze prírodného zeolitu (typ klinoptilolit) s využitím alginátov tak, aby bol účinný pri odstraňovaní oxyaniónových polutantov (dusičnanov a síranov) z vôd.

Experimentálna časť

Reagenty

Na prípravu modelových roztokov dusičnanov a síranov sme použili soli KNO_3 a $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$ (Lachema, Brno, ČR) rozpustené v destilovanej vode. Pri úprave adsorbentov sme použili CaCl_2 a $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ (Lachema, Brno, ČR). Všetky použité chemikálie boli p. a. čistoty.

Adsorbenty a ich príprava

V experimentoch sme použili adsorpčný materiál na báze zeolitu a alginátu. Polysacharid alginát sodný (komerčne dostupný produkt Protanal XLRB) sme získali z FMC BioPolymer (Belgicko) a prírodný zeolit typu klinoptilolit z ložiska pri Nižnom Hrabovci (Slovensko) nám bol dodaný v práškovej forme (zrnitostnej frakcie pod 0,2 mm) od jeho spracovateľa a.s. ZEOCEM Bystré.

Spôsob prípravy adsorbentu na báze alginátu a zeolitu je založený na interakcii alginát-zeolitej suspenzie s vápenatými kationmi, kde po vzájomnom kontakte dochádza k formovaniu hydrogélových alginát-zeolitových peliet (globulárnych sférických častíc).

Pri príprave vzoriek sme použili 1% vodný roztok alginátu sodného, ku ktorému sme dávkovali prírodný klinoptilolit v práškovej forme v rôznom hmotnostnom pomere (alginát:zeolit – 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 a 1:5) za účelom zistenia vplyvu zeolitu na celkovú účinnosť kombinovaného adsorbentu. Intenzívnym miešaním vznikla homogénna alginát-zeolitová zmes, ktorú sme dávkovali cez 1 ml pipetu po kvapkách do 0,1 mol l^{-1} CaCl_2 . V prítomnosti kationov Ca^{2+} sa vyzrážali alginát-zeolitové pelety v podobe pravidelných granúl, ktoré v roztoku dozrievali približne 16 h tak, aby boli homogénne.

Pre dosiahnutie vyššej adsorpčnej účinnosti sme Ca(II) -alginát-zeolitové pelety dodatočne dopovali s kationmi Fe^{3+} . Počas doby kontaktu (16 hod) došlo k čiastočnej substitúcii Ca^{2+} za Fe^{3+} .

V ďalšom kroku sme Ca(II) -alginát-zeolitové aj Fe(III) -alginát-zeolitové pelety niekoľkokrát dekantovali v destilovanej vode, aby sa odstránili prebytočné vápenaté, železité a chloridové ióny.

Na porovnanie účinnosti kombinovaných alginát-zeolitových vzoriek sme pripravili pelety rovnakým spôsobom, ale bez obsahu zeolitu. Všetky typy pripravených vzoriek sa uchovávali v destilovanej vode, aby si zachovali pôvodné vlastnosti.

Prístroje, zariadenia a analytické metódy

Topografiu povrchov, a zároveň mikroštruktúru kombinovaných adsorbentov, sme študovali pomocou rastrovacieho elektrónového mikroskopu JEOL-JXA 840A.

Analýzu vzoriek oxyaniónov vo vodných roztokoch sme uskutočnili na izotachoforetickom analyzátore ZKI 02 (VILLA Labeco, s.r.o.). Separačná jednotka analyzátora je zložená z dávkovača s objemom 30 μl a z dvoch kolón, predseparačnej s vnútorným priemerom 0,8 mm a z analytickej kolóny s vnútorným priemerom 0,3 mm. Namerané údaje sme spracovali programom ITPPro 32 (KasComp, spol. s.r.o.). Zvolené modelové roztoky boli analyzované v systéme vodiaceho a zakončujúceho elektrolytu podľa

Tabuľka I

Zloženie vodiaceho a zakončujúceho elektrolytu v závislosti od typu analyzovaného iónu

Vodiaci elektrolyt	Zakončujúci elektrolyt	Typ analyzovaných iónov
8 mmol l ⁻¹ HCl + 3 mmol l ⁻¹ BTP ^a + β-alanín + 0,2 % m-HEC ^b	5 mmol l ⁻¹ kyselina citrónová	NO ₃ ⁻
10 mmol l ⁻¹ NO ₃ ⁻ + 4 mmol l ⁻¹ Cd ²⁺ + β-alanín + 0,1 % m-HEC ^b	10 mmol l ⁻¹ vínán sodno-draselný	SO ₄ ²⁻

^a Bis-tris-propán, ^b metylhydroxyetylcelulóza

typu analyzovaného iónu (tab. I). Vzorky sme dávkovali do rozhrania týchto dvoch elektrolytov. Samotná analýza vychádzala z odzvy vodivostného detektora v pred-separačnej kolóne. Koncentračné zastúpenie stanovovaných iónov sme určili z kalibračnej krivky.

Kinetika adsorpcie

Pre definovanie času potrebného na dosiahnutie rovnováhy v systéme sme sledovali závislosť adsorbovaného množstva od doby kontaktu adsorbenta s adsorbátom. Kinetické experimenty boli realizované tak, že do sklenených nádobiek sme navážili 0,5 g vzorky adsorbenta s analytickou presnosťou a pridali 50 ml vodného roztoku polutantu (dusičnanov, resp. síranov) s východiskovou koncentráciou 356 mg l⁻¹. Takto pripravené vzorky sme nechali miešať na laboratórnej trepačke (frekvencia 180 kmit min⁻¹) v časovom intervale 0–5 h pri teplote 23 ± 0,2 °C. Po oddelení tuhého podielu sme koncentráciu aniónov v roztoku stanovili metódou kalibračnej krivky pomocou ITP (izotachofórey).

Na opísanie procesu kinetiky adsorpcie môžeme využiť viacero modelov. Najčastejšie sú používané modely pseudoprvého a pseudodruhého poriadku. Model pseudoprvého poriadku vyjadruje Lagergrenova rovnica²⁹, ktorá bola síce navrhnutá v roku 1898, avšak dodnes je používaná a diskutovaná (cit.^{30,31})

$$\ln\left(1 - \frac{a_t}{a_R}\right) = -k_1 t \quad (1)$$

kde a_t a a_R vyjadrujú množstvo adsorbátu zachyteného na jednotkovom množstve adsorbenta v čase t a v rovnováhe [mg g⁻¹] a k_1 je rýchlostná konštanta adsorpcie prvého poriadku [h⁻¹].

Model pseudodruhého poriadku má tvar (cit.³²):

$$\frac{t}{a_t} = \frac{1}{k_2 a_R^2} + \frac{t}{a_R} \quad (2)$$

kde k_2 vyjadruje rýchlostnú konštantu adsorpcie druhého poriadku [g mg⁻¹ h⁻¹].

Adsorpcia

Pri experimentálnom stanovení adsorpčnej kapacity sme do sklenených nádobiek navážili 0,5 g vzorky kombinovaného adsorbenta a pridali 50 ml vodného roztoku solí dusičnanov resp. síranov s východiskovými koncentraciami v rozsahu 100–1700 mg l⁻¹. Tieto vzorky sme nechali vytrepávať po dobu ustálenia rovnováhy získanú z kinetických závislostí pri teplote 23 ± 0,2 °C. Po odfiltrovaní adsorbenta sme stanovili rovnovážnu koncentráciu. Výsledky sme graficky spracovali pomocou adsorpčných izoteriem a matematicky vyhodnotili využitím Langmuirovej a Freundlichovej adsorpčnej izotermy. V grafoch sú uvedené aritmetické priemery z dvoch paralelných meraní spolu s ich štandardnými odchýlkami (SD).

Množstvo dusičnanov, resp. síranov, naadsorbovaných na alginát-zeolitových peletách sme vypočítali podľa rovnice (3) ako rozdiel medzi východiskovou koncentráciou C_0 a koncentráciou v roztoku po kontakte s kombinovaným adsorbentom C_R :

$$a = \frac{(C_0 - C_R)V}{M} \quad (3)$$

kde a je adsorpčná kapacita [mg g⁻¹], V je objem roztoku [l] a M vyjadruje hmotnosť adsorbentu [g].

Analýza experimentálnych údajov adsorpcie modelmi Langmuirovej a Freundlichovej izotermy

Najčastejším matematickým vyjadrením experimentálnych údajov adsorpcie pre adsorpčné systémy tuhá látka a roztok sú Langmuirova a Freundlichova izoterma.

Langmuirova adsorpčná izoterma³³ vychádza z dynamickej predstavy adsorpcie, pričom predpokladá vytvorenie monomolekulovej vrstvy adsorbátu na homogénnom povrchu adsorbenta a má tvar:

$$a = \frac{a_{\max}(KC_R)}{1 + KC_R} \quad (4)$$

kde a_{\max} a K sú Langmuirove konštanty, ktoré súvisia s maximálnou adsorpčnou kapacitou a energiou adsorpcie.

Tieto konštanty sme vypočítali z linearizovaného tvaru Langmuirovej izotermy:

$$\frac{1}{a} = \frac{1}{a_{\max}(KC_R)} + \frac{1}{a_{\max}} \quad (5)$$

Freundlichova adsorpčná izoterma³⁴ sa často používa v oblasti nízkych tlakov (u plynov) a nízkych koncentrácií (u roztokov), pričom predpokladá adsorpciu na nehomogénom povrchu a má tvar:

$$a = kC_R^{1/n} \quad (6)$$

kde k a n sú Freundlichove konštanty, ktoré indikujú adsorpčnú kapacitu adsorbenta a adsorpčnú afinitu adsorbátu. Tieto hodnoty konštant sme získali z linearizovanej Freundlichovej rovnice:

$$\log a = \log k + \frac{1}{n} \log C_R \quad (7)$$

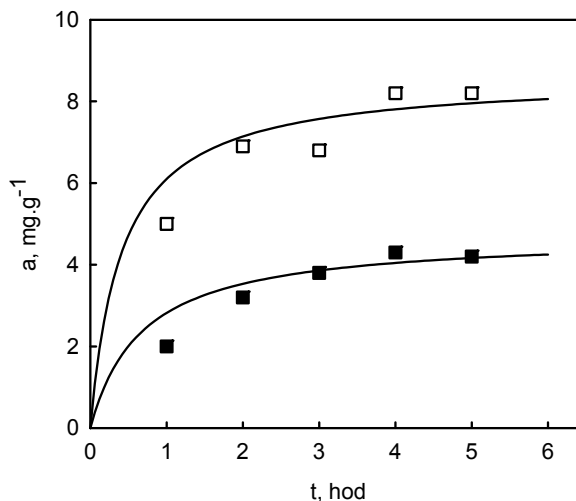
Výsledky a diskusia

Prírodný zeolit predstavuje na základe veľkého adsorpčného povrchu vhodný materiál pre prípravu kombinovaného adsorbenta. Ca^{2+} -katióny, na ktoré je klinoptilolit zo slovenského ložiska bohatý, môžu tvoriť spojovacie činidlo medzi zeolitovou štruktúrou a alginátovými reťazcami. Keďže adsorbent na báze zrnitého zeolitu s imobilizovaným alginátovým substrátom na externom povrchu nevykazoval dostatočnú účinnosť voči aniónovým polutantom³⁵ pravdepodobne kvôli nízkemu počtu adsorpčných centier, pripravil sa nový typ kombinovaného adsorbentu – hydrogélové alginát-zeolitové pelety.

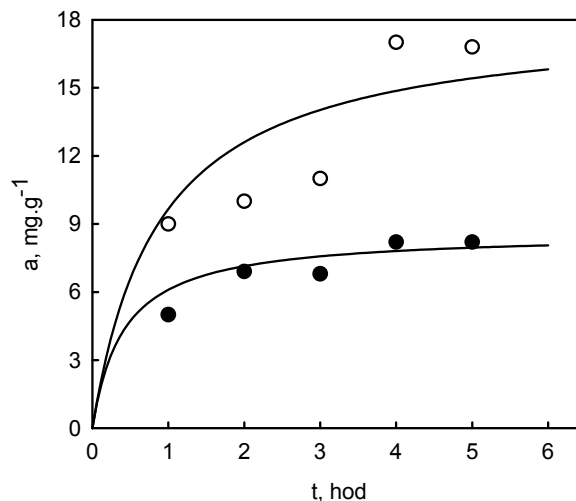
Adsorpčné vlastnosti alginát-zeolitových peliet sme overovali pomocou jednoduchých kinetických závislostí. Keďže viaceré štúdie poukázali na pozitívny vplyv prítomnosti Fe^{3+} v alginátových sorbentoch, na získanie vyššej adsorpčnej účinnosti sme dopovali pripravené alginát-zeolitové pelety s Fe^{3+} -katiónmi. Podobný spôsob na zvýšenie účinnosti adsorbentu voči aniónovým polutantom zvolili autori Min a Hering²⁶, či Peretz a Cinteza²⁷, čím dosiahli zvýšenie účinnosti alginátového adsorbentu.

Keďže alginátový hydrogél tvorí asi z 99 % voda (cit.³⁶), hydrogélové pelety s vysokým obsahom vody sme prepočítali na bezvodý adsorbent. Iný prepočet adsorpčnej kapacity použili Min a Hering²⁶, ktorí sledovali adsorpčné vlastnosti hydrogélových alginátových peliet voči arzeničnanom a kapacitu prepočítavali na obsah Fe vo vzorke adsorbentu.

Aby sme overili, že prítomnosť Fe^{3+} v kombinovanom adsorbente významne ovplyvňuje adsorpciu anorganických polutantov vo forme aniónov, porovnali sme alginát-zeolitové pelety dopované s Fe^{3+} katiónmi ako aj bez dopovania. Z obr. 2 je zrejmé, že prítomnosť Fe^{3+} má pozitívny vplyv na adsorpciu dusičnanov, keďže adsorp-



Obr. 2. Porovnanie priebehu kinetických závislostí dusičnanov na hydrogélových peletách, ■ Fe(III)-alginát-zeolitových, □ Ca(II)-alginát-zeolitových peletách



Obr. 3. Porovnanie priebehu kinetických závislostí oxyaniónov na hydrogélových Fe(III)-alginát-zeolitových peletách, ● dusičnany, ○ sírany

čná kapacita adsorbentu bez Fe^{3+} bola asi o 50 % nižšia. Okrem kinetických závislostí dusičnanov sme študovali aj adsorpciu síranových polutantov na Fe(III)-alginát-zeolitových peletách. Ako vidieť na obr. 3, vyššia adsorpčná kapacita bola dosiahnutá pri adsorpcii síranov ako dusičnanov, pričom v oboch systémoch sme dosiahli rovnováhu po 4 hodinách.

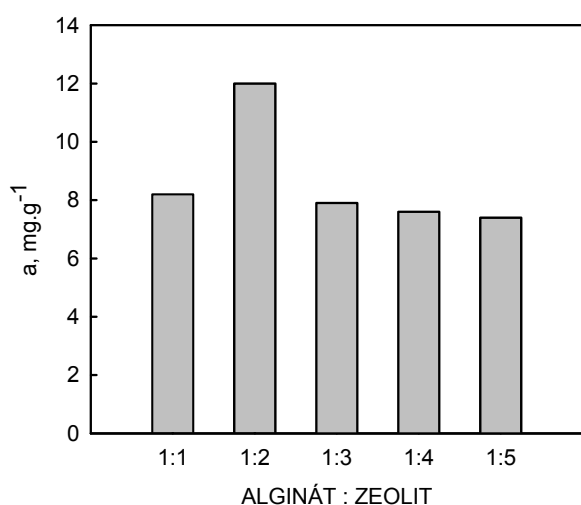
Kinetiku adsorpcie dusičnanov a síranov sme charakterizovali pomocou konštant modelu rýchlostnej rovnice pseudoprvého a pseudodruhého poriadku, ktoré sme vypočítali podľa vzťahov (1) a (2). Výsledky sú uvedené

Tabuľka II

Konštanty pseudoprvého a pseudodruhého poriadku adsorpcie dusičnanov a síranov na kombinovaných adsorbentoch s hmotnostným pomerom alginát:zeolít 1:1, pri $c_0 = 356 \text{ mg l}^{-1}$ a $T = 23 \pm 0,2 \text{ }^\circ\text{C}$

Typ adsorbentu	Polutant	Pseudoprvý poriadok		Pseudodruhý poriadok		
		$k_1 [\text{h}^{-1}]$	R^2	$k_2 [\text{g mg}^{-1} \text{h}^{-1}]$	$a_R [\text{mg g}^{-1}]$	R^2
Ca-alg-zeo ^a (1:1)	dusičnany	0,893	0,7702	0,312	4,73	0,9414
Fe-alg-zeo ^b (1:1)	dusičnany	1,164	0,847	0,282	8,61	0,9726
Fe-alg-zeo ^b (1:1)	sírany	0,767	0,7604	0,063	18,12	0,8502

^a Ca(II)-alginát-zeolitové pelety, ^b Fe(III)-alginát-zeolitové pelety



Obr. 4. Porovnanie adsorpčnej kapacity hydrogélových peliet s rôznym hmotnostným pomerom alginát:zeolít k dusičnanom ($c_0 = 356 \text{ mg l}^{-1}$)

v tab. II. Korelačné koeficienty získané pre kinetický model pseudodruhého poriadku majú vyššie hodnoty ako model pseudoprvého poriadku, čo znamená, že model pseudodruhého poriadku viac vyhovoval experimentálnym údajom získaným v tomto experimente.

Ďalší parameter, ktorý sme sledovali pri hydrogélových alginát-zeolitových peletách, bolo množstvo zeolitu vo vzorke kombinovaného adsorbentu. Zistili sme, že obsah zeolitu vo vzorke ovplyvňuje adsorpčnú kapacitu týchto kombinovaných peliet a táto závislosť je vyjadrená na obr. 4. Ako z obrázka vyplýva, najvýhodnejší hmotnostný pomer alginát:zeolít je 1:2, pričom postupným zvyšovaním množstva zeolitu vo vzorke účinnosť voči dusičnanom postupne klesala. Adsorpčná kapacita bola stanovená vo všetkých prípadoch v čase ustálenia rovnováhy (4 h).

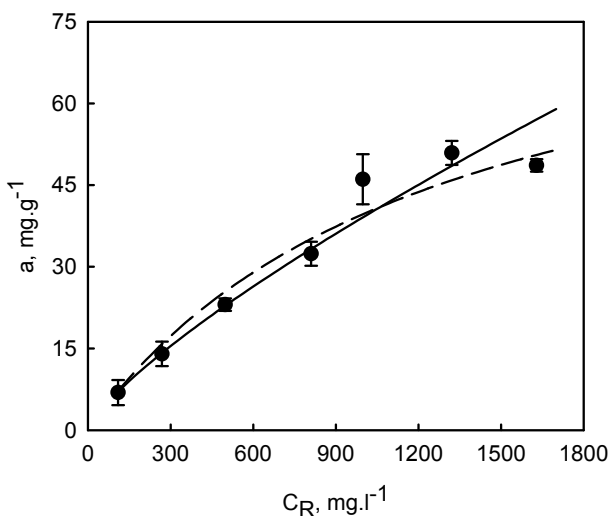
Pre posúdenie adsorpčnej účinnosti sme výsledky z adsorpcie oxyaniónov na kombinovaných alginát-zeolitových peletách kvantitatívne vyhodnotili pomocou rovnovážnych adsorpčných izoteriem. Na obr. 5 a 6 sú znázornené adsorpčné izotermy dusičnanov a síranov na Fe(III)-alginát-zeolitových peletách (1:2), ktoré preukázali najvyššiu účinnosť odstránenia týchto polutantov. Pre po-

Tabuľka III

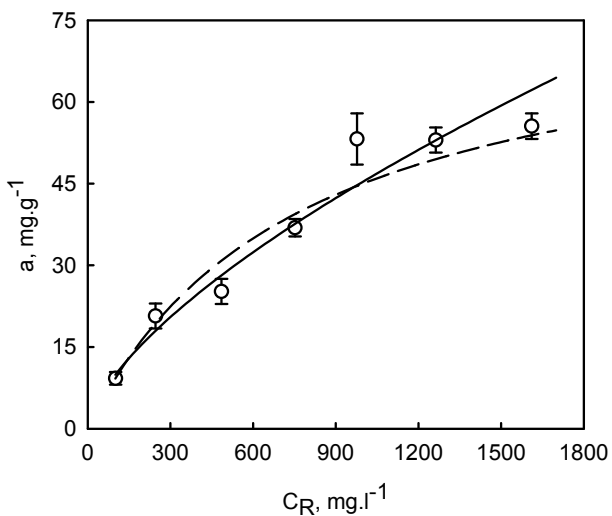
Parametre Freundlichovej a Langmuirevej izotermy pre experimentálne údaje adsorpcie oxyaniónov na kombinované adsorbenty s hmotnostnými pomermi alginát:zeolít 1:1 a 1:2 v koncentračnom rozsahu $100\text{--}1700 \text{ mg l}^{-1}$, pri $T = 23 \pm 0,2 \text{ }^\circ\text{C}$

Typ adsorbentu	Polutant	Parametre Freundlichovej izotermy			Parametre Langmuirevej izotermy		
		k [l mg^{-1}]	$1/n$	R^2	a_{max} [mg g^{-1}]	K [l mg^{-1}]	R^2
Fe-alg-zeo ^a (1:2)	dusičnany	0,188	0,773	0,9832	89,3	0,0008	0,9947
Fe-alg-zeo ^a (1:2)	sírany	0,474	0,661	0,9687	79,4	0,0013	0,9868
Fe-alg-zeo ^a (1:1)	dusičnany	0,031	0,991	0,9721	80,6	0,0004	0,966
Ca-alg-zeo ^b (1:1)	dusičnany	0,019	0,982	0,9655	39	0,0006	0,947
Fe-alginát	dusičnany	0,077	0,861	0,9769	62,5	0,0007	0,9729
Ca-alginát	dusičnany	0,035	0,912	0,9847	49	0,0005	0,9648

^a Fe(III)-alginát-zeolitové pelety, ^b Ca(II)-alginát-zeolitové pelety



Obr. 5. Adsorpčné izotermy dusičnanov na Fe(III)-alginát-zeolitových peletách (1:2), pri $T = 23 \pm 0,2$ °C, ● experimentálne údaje, — Freundlichova izoterma, - - - Langmuirova izoterma



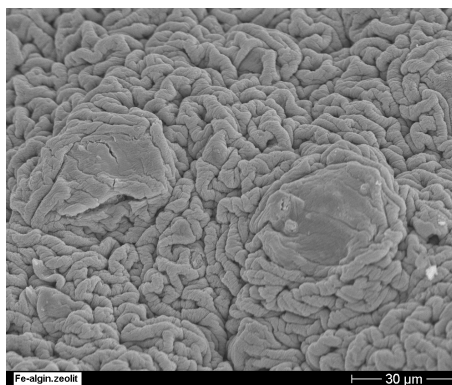
Obr. 6. Adsorpčné izotermy síranov na Fe(III)-alginát-zeolitových peletách (1:2), pri $T = 23 \pm 0,2$ °C, ○ experimentálne údaje, — Freundlichova izoterma, - - - Langmuirova izoterma

rovnanie sa vyhodnotili aj alginátové pelety bez obsahu zeolitu. Konštanty Freundlichovej a Langmuirevej izotermy, ktoré popisujú adsorpciu dusičnanov a síranov na pripravených adsorbentoch, boli vypočítané z linearizovaných foriem adsorpčných izoteriem podľa vzťahov (5); (7) a sú uvedené v tab. III.

Ako je vidieť z tabuľky III, vo väčšine prípadov experimentálne údaje viac vyhovovali modelu Freundlichovej adsorpčnej izotermy. U týchto adsorbentov sa dá predpokladať heterogénny povrch obsahujúci adsorpčné centrá s rôznymi adsorpčnými potenciálmi. Na základe získaného parametra $1/n$ z Freundlichovej izotermy, ktorý je indikátorom nelinearity, možno usúdiť, že takmer všetky izotermy sú nelineárne ($1/n = 1$ je hodnota pre lineárnu izotermy). Táto nelinearita môže byť dôsledkom viacerých príčin, ako je heterogenita sorpčných miest alebo interakcia adsorbát-adsorbát³⁷. Na rozdiel od toho adsorpčné izotermy pre Fe(III)-alginát-zeolitové pelety (1:1) a Ca(II)-alginát-zeolitové pelety (1:1) boli relatívne lineárne, pretože Freundlichov exponent $1/n$ bol v oblasti 0,98–0,99. Pozorovaný lineárny priebeh adsorpcie dusičnanov naznačuje, že v danom koncentračnom rozsahu pravdepodobne nedošlo k obsadeniu všetkých adsorpčných pozícií.

Z parametrov Langmuirevej izotermy sme stanovili hodnoty a_{\max} , ktoré charakterizujú maximálne množstvo adsorbovaného oxyaniónu na jednotku hmotnosti adsorbenta s predpokladom vytvorenia adsorpčnej monovrstvy na povrchu. Ako vidieť pri porovnaní, vyššia adsorpčná kapacita bola dosiahnutá pre dusičnany $a_{\max} = 89,3$ mg g⁻¹ ako pre sírany ($a_{\max} = 79,4$ mg g⁻¹). Zaujímavé je aj porovnanie Ca(II)-alginát-zeolitových pelet s Fe(III)-alginát-zeolitovými peletami, kde je evidentné, že maximálna adsorpčná kapacita sa dopovaním zvýšila asi o 50 %. Popri alginát-zeolitových peletách sa stanovili adsorpčné izotermy aj pre vzorky bez obsahu zeolitu, kde je možné pozorovať pokles adsorpčnej kapacity. Tieto výsledky potvrdili, že zeolit sa v kombinovanom adsorbente nepodieľa len na zvýšení mechanickej stability, ale aj na zvýšení adsorpčnej kapacity.

Keďže Fe(III)-alginát-zeolitové pelety (1:2) preukázali najvyššiu účinnosť voči oxyaniónom, charakterizovali sme povrch tohto kombinovaného adsorbentu pomocou rastrovacieho elektrónového mikroskopu (obr. 7). Pri tejto vzorke bolo pozorované intenzívne zvrásnenie alginátových reťazcov, ktoré pokryli pôvodnú tabličkovitú štruktúru prírodného zeolitu. Tento povrchový efekt naznačuje



Obr. 7. SEM záznam z povrchu Fe(III)-alginát-zeolitových pelet (1:2)

vysoký stupeň retikulácie a zároveň prepojenie reťazcov polysacharidu so zeolitovou maticou. Takéto výrazné zvrásnenie nebolo pozorované u Ca(II)-alginát-zeolitových peliet. Na základe toho sa dá predpokladať, že Fe^{3+} má významný vplyv na štruktúru adsorbentu a zároveň jeho adsorpčné vlastnosti, čo sme experimentálne potvrdili.

Záver

Na základe uvedených výsledkov možno konštatovať, že pripravený kombinovaný adsorbent na báze prírodného zeolitu a polysacharidu alginátu potvrdil schopnosť odstraňovať oxyaniónové polutanty z vôd na rozdiel od prírodného klinoptilolitu, ktorý v nemodifikovanej forme nevykazuje žiadnu účinnosť voči dusičnanom a síranom.

Z kinetických závislostí sme zistili, že optimálny čas na ustálenie rovnováhy v adsorpčnom systéme sú 4 h a kinetiku adsorpcie lepšie popisuje model pseudodruhého poriadku. Adsorpcia dusičnanov a síranov sa uskutočnila pravdepodobne prostredníctvom elektrostatických interakcií, pričom sme dokázali, že prítomnosť Fe^{3+} katiónov v adsorbente výrazne ovplyvňuje adsorpčnú kapacitu. Na popis adsorpčných izoteriem sme použili model Freundlichovej a Langmuirovej izotermy.

Záverom je možné zhrnúť, že z odskúšaných alginát-zeolitových adsorbentov sa ukázal ako najvhodnejší Fe(III)-alginát-zeolitový adsorbent (1:2) s adsorpčnou kapacitou $89,3 \text{ mg g}^{-1}$ pre dusičnany a $79,4 \text{ mg g}^{-1}$ pre sírany. Tieto experimentálne výsledky naznačujú potenciálne využitie adsorbentu pri odstraňovaní oxyaniónov z vôd.

LITERATÚRA

- Jenne E. A. (ed.): *Adsorption of Metals by Geomedia: Variables, Mechanism and Model Applications*. Academic Press, San Diego 1998.
- Gómez M. A., González-López J., Hontoria-García E.: *J. Hazard. Mater.* 80, 69 (2000).
- Roundhill D. M., Koch H. F.: *Chem. Soc. Rev.* 31, 60 (2002).
- Fox K. R., Sorg T. J.: *JAWWA* 79, 81 (1987).
- Peng F. F., Pingkuan D.: *Ind. Eng. Chem. Res.* 33, 922 (1994).
- Huang C. P., Fu L. K.: *J. Water Poll. Control Fend.* 56, 233 (1984).
- Peak J. D., Sparks D. L.: *Environ. Sci. Technol.* 36, 1460 (2002).
- Peak J. D.: *J. Colloid Interface Sci.* 303, 337 (2006).
- Haggerty G. M., Bowman R. S.: *Environ. Sci. Technol.* 28, 452 (1994).
- Chmielewská E., Sabová L., Jesenák K.: *J. Therm. Anal. Cal.* 92, 567 (2008).
- Chutia P., Kato S., Kojima T., Satokawa S.: *J. Hazard. Mater.* 162, 204 (2009).
- Akar S. T., Yetimoglu Y., Gedikbey T.: *Desalination* 244, 97 (2009).
- Tian S., Jiang P., Ning P., Su Y.: *Chem. Eng. J.* 151, 141 (2009).
- Chmielewská E., Tylus W., Morvová M.: *Cent. Eur. J. Chem.* 4, 1 (2006)
- Chernev G. E., Samuneva B. I., Djambaski P. R., Salvador I. M. M., Fernandes V.: *Cent. Eur. J. Chem.* 4, 81 (2006).
- Wasay S. A., Tokunaga S., Park S. W.: *Separ. Sci. Tech.* 31, 1501 (1996).
- Cao G., Tian H.: *J. Sol–Gel Sci. Tech.* 13, 30 (1998).
- Wang X., Wang L., He X., Zhang Y., Chen L.: *Talanta* 78, 327 (2009).
- Phan T. N. T., Bacquet M., Morcellet M.: *React. Funct. Polym.* 52, 117 (2002).
- Li F., Jiang H., Zhang S.: *Talanta* 71, 1487 (2007).
- Bailey S. E., Olin T. J., Bricka R. M., Adrian D. D.: *Water Res.* 33, 2469 (1999).
- Crini G.: *Prog. Polym. Sci.* 30, 38 (2005).
- Cestari A. R., Vieira E. F. S., Mota J. A.: *J. Hazard. Mater.* 160, 337 (2008).
- Vijaya Y., Popuri S. R., Boddu V. M., Krishnaiah A.: *Carbohydrate Polym.* 72, 261 (2008).
- Park H. G., Kim T. W., Chae M. Y., Yoo I. K.: *Process Biochem.* 42, 1371 (2007).
- Min J. H., Hering J. G.: *Water Res.* 32, 1544 (1998).
- Peretz S., Cinteza O.: *Colloids Surf., A* 319, 165 (2008).
- Rees D. A., Welsh E. J.: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 16, 214 (1977).
- Lagergren S.: *K. Sven. Vetenskapskad. Handl.* 24, 1 (1898).
- Rudzinski W., Plazinski W.: *J. Phys. Chem. C* 111, 15100 (2007).
- Dogan M., Karaoglu M.H., Alkan M.: *J. Hazard. Mater.* 165, 1142 (2009).
- Ho Y. S.: *Water Res.* 40, 119 (2006).
- Langmuir I.: *J. Am. Chem. Soc.* 40, 1361 (1918).
- Freundlich H. M. F.: *Kapillarchemie*. Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig 1922.
- Chmielewská E., Sabová L., Wu A., Aranyosiová M., Velič D.: *Annales Universitatis Mariae Curie-Sklodowska* 62, 35 (2007).
- George M., Abraham T. E.: *J. Contr. Release* 114, 1 (2006).
- Cheung C. W., Porter J. F., McKay G.: *Water Res.* 35, 605 (2001).

L. Sabová^a, E. Chmielewská^a, and K. Gáplovská^b
 (^a Department of Ecosozology and Physiotactics, Faculty of Natural Sciences, Comenius University, Bratislava, Slovak Republic, ^b Chemical Institute, Faculty of Natural Sciences, Comenius University, Bratislava): **Development and Exploitation of Combined Zeolite Adsorbents for Removing Oxyanions from Water**

Natural zeolites are very popular in environment remediation due to their abundance and cost effectiveness. Their large surface area offers surface modification to improve their adsorption properties. The aim of the study

is to develop combined adsorbents based on zeolites and alginates for removal of oxyanions from water. The combined adsorbents were prepared by mixing powdered zeolite and alginate, which, in the presence of divalent cations like Ca^{2+} form hydrogel beads. The Ca(II) -alginate-zeolite beads were further treated with Fe^{3+} cations to enhance their adsorption capacity. The zeolite/alginate ratio in the adsorbent was studied in order to find the most effective adsorbent. Kinetics of nitrate and sulfate adsorption were investigated. From the measured data, adsorption isotherms were obtained and evaluated.



**INSTITUTE OF
CHEMICAL TECHNOLOGY
PRAGUE**

Czech Chemical Society
 Department of Carbohydrate Chemistry and Technology, ICT Prague

6th International Conference on Polysaccharides
29.9.–1.10. 2010

Conference venue: Street Novotného lávka 5, Prague 1, Czech Republic

Topics:

Characterization and analyses of polysaccharides from natural sources.
Physiological effects of natural polysaccharides.
Production of polysaccharides and agricultural sources.
Biodegradable plastics based on polysaccharides.

Keynote lectures:

Jay-lin Jane, Dept. Food Sci. & Human Nutrition, Iowa State University, USA: **Resistant starch and its health benefits**

Karel Bezouška, Academy of Sciences of the Czech Republic, Institute of Microbiology: **Avenues of contemporary glycoscience: from glycomic technologies to drugs that are sweet inside as well as the at the surface**

Ladislav Svarovsky, Bexhill-on-Sea, United Kingdom: **Separation, thickening, classification and washing of wheat starch with hydrocyclones**

Luca Vannucci, Academy of Sciences of the Czech Republic, Institute of Microbiology: **A glycobiological approach to anticancer immunotherapy: Results in experimental models**

Tadeusz Spychaj, West Pomeranian University of Technology, Polymer Institute, Szczecin, Poland: **Extruded thermo-plastic starch-based (nano)materials for technical application**

Miroslav Novák, Dept. Carbohydrate Chem. & Techn., Institute of Chemical Technology Prague, Czech Republic: **β -Glucan composition and structure – an evolution of views**

Zuzana Košťálová, Z. Hromádková, A. Ebringerová, G. Nosáľová, E. Prisenžňáková, Slovak Academy of Science, Institute of Chemistry, Laboratory of Glycoconjugates: **Isolation, structure and properties of pectic polysaccharides from the pumpkin (*Cucurbita pepo* L. var *Styriaca*)**

The lectures and posters should be presented in English.

Deadlines for submission of abstracts 31st May 2010.

The deadline for registration is the 31st July 2010.

Next information: <http://www.polysaccharides.csch.cz/index.html>

STANOVENÍ METANEFRINU A NORMETANEFRINU V KREVNI PLAZMĚ POMOCÍ HPLC S ELEKTROCHEMICKOU DETEKČÍ

ALICE VRÁNKOVÁ, TEREZA ŠKRAMLÍKOVÁ, JIŘÍ WIDIMSKÝ JR., TOMÁŠ ZELINKA, ONDŘEJ PETRÁK, ROBERT HOLAJ, BRANISLAV ŠTRAUCH, JÁN ROSA, JAN ŠKRHA a ZDENA JÚZOVÁ

III. interní klinika 1. lékařské fakulty UK a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze, U nemocnice 1, 128 08 Praha 2
alice.vrankova@vfn.cz

Došlo 26.1.09, přijato 10.6.09.

Klíčová slova: metanefriny, plazma, HPLC-ED, validace

Úvod

Stanovení katecholaminů a jejich *O*-methylmetabolitů, zejména metanefrinu (MN) a normetanefrinu (NMN), je užitečné v diagnostice tumoru chromafinních buněk feochromocytomu (FEO). Tento typ nádoru syntetizuje, ukládá a metabolizuje katecholaminy a většinou je také vylučuje. Proto je možné zvýšenou koncentrací katecholaminů a jejich metabolických produktů v moči a v plazmě využít jako diagnostické markery tohoto typu nádoru¹. Nadprodukce katecholaminů nádorem vede u většiny pacientů k zvýšení krevního tlaku, proto podezření na FEO vzniká převážně u pacientů s hypertenzí. Zde je ovšem nutné rozlišit, o jaký fenotyp FEO se jedná. Noradrenergní fenotyp, produkující převážně noradrenalin (NA), resp. NMN, adrenergní fenotyp produkující hlavně adrenalin (A), resp. MN nebo fenotyp smíšený, který produkuje obě látky současně. Pacienti s adrenergním fenotypem FEO mají na rozdíl od ostatních fenotypů spíše záchtavovitě zvyšování krevního tlaku a normotenzí, případně hypotenzí^{2,3}.

Vědecké studie z poslední doby zabývající se touto problematikou vyzdvihují především stanovení volných metanefrinů v plazmě jako nejcitlivější stanovení vzhledem k diagnóze FEO^{4,5}. Jedním z důvodů preference metanefrinů je kontinuální produkce těchto látek nádorovou buňkou, na rozdíl od katecholaminů, které jsou produkovány jen periodicky. Rovněž bylo zjištěno, že u pacientů s FEO pochází převážná část nadprodukce NMN a MN v plazmě z metabolismu katecholaminů v dřeni nadledvin, nikoli z nádorových buněk. Toho se využívá zejména u takových typů FEO, jejichž nádorové buňky katechola-

miny neprodukují. Zde se stanovením plazmatických metanefrinů zamezí vzniku falešně negativních výsledků⁶.

Nejvíce používanou metodou pro stanovení NMN a MN v plazmě je HPLC s elektrochemickou detekcí (ED)^{7–10}. Tato technika je méně nákladnou alternativou k používaným separačním technikám ve spojení s hmotnostní spektrometrií^{10,11}. Další možnosti pro stanovení metanefrinů jsou imunochemické metody založené na reakci se značenými protilátkami^{12,13}. U imunochemických metod se poukazuje na problém zkřížených reakcí a analytických interferencí¹⁰, rovněž pořizovací cena imunochemických souprav je vyšší.

Při zavádění metody stanovení plazmatických metanefrinů pomocí HPLC-ED jsme se nejdříve zaměřili na ověření validačních parametrů metody. Vzhledem k tomu, že metoda již byla interně validována v publikaci Lenders a spol.⁷, orientovali jsme se hlavně na validaci při převodu metody, která zahrnuje stanovení opakovatelnosti a správnosti. Rovněž jsme ověřili platnost této již publikované validované metody kontrolou způsobilosti metody, neboli kontrolou kalibrační přímky a stanovili tak linearitu a citlivost metody¹⁴ a její mez detekce a mez stanovitelnosti. Navíc jsme určili reprodukovatelnost metody. Rovněž jsme posuzovali schopnost metody správně zařadit pacienty (s nádorem, bez nádoru) a výsledky stanovení jsme porovnali s jinou dostupnou metodou, která rovněž interpretuje výsledky vzhledem k přítomnosti či nepřítomnosti FEO. Srovnávaná metoda stanovuje volné katecholaminy v moči metodou HPLC s fluorescenční detekcí (HPLC-FLD).

K určení koncentračního rozmezí u pacientů bez nádoru a nalezení koncentrační hranice, nad níž se nacházejí pacienti s feochromocytomem, jsme analyzovali tři skupiny dobrovolníků. První skupinu tvořili zdraví pacienti s normotenzí, další pacienti s hypertenzí a poslední skupinou byli pacienti s feochromocytomem.

Experimentální část

Chemikálie

Standardy – NMN ((±) normetanefrin hydrochlorid), MN ((±) metanefrin hydrochlorid) a HMBA (4-hydroxy-3-methoxybenzylamin-hydrochlorid), používaný jako vnitřní standard (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA).

Chemikálie pro extrakci na pevné fázi (SPE) – hydroxid draselný (Penta, Chrudim, ČR), hydroxid amonný a dihydrogenfosforečnan amonný (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA), methanol, koncentrovaná kyselina octová a voda pro chromatografii (Merck KGaA, Darmstadt, Německo).

Chemikálie pro přípravu mobilní fáze (MF) – acetonitril, voda pro chromatografii, kyselina fosforečná (vše Merck, Darmstadt, Německo), kyselina oktansulfonová, dihydrogenfosforečnan sodný, monohydrát a dihydrát disodné soli kyseliny ethylendiamintetraoctové (vše Sigma-

Aldrich, St. Louis, USA).

Přístroje a doplňkový materiál

Extrakce: čtyřiadvacetipolohový vakuový extraktor (Phenomenex, Torrance, USA), SPE kolonky obsahující iontoměnič (Varian, Palo Alto, USA), dávkovače kapalin Seripettor (Brand, Wertheim, Německo), vakuová odparka Jouan RC10.22 (Saint-Herblain, Francie)

Chromatografie: HPLC systém Agilent 1100 složený z odplynovače G1379A, kvartérní pumpy G1311A, autosampleru G1329A, termostatu autosampleru G1330B, termostatu kolony G 1316A (Agilent Technologies, Wilmington, USA), elektrochemický (coulometrický) detektor (ESA, Chelmsford, USA), předkolona SecurityGuard [4,0 × 3,0 mm] a analytická kolona C18, velikost částic 5 μm, [250 × 4,6 mm] (Phenomenex, Torrance, USA)

Podmínky odběru vzorku krve

Krev pro stanovení plazmatických metanefrinů je odebírána na lačno, pomocí kanyly a po předchozí dietě. Omezení určitých potravin a léků je zapotřebí z důvodu možné interference při chromatografické analýze. Odběr krve se provádí vleže nebo vsedě, pacientovi se zavede kanyla a po patnáctiminutovém klidu se přistupuje k odběru. Tím se nezvyšují hodnoty analytů stresem. Po odběru je nutné co nejrychleji oddělit krvinky od plazmy centrifugací, aby se sledované látky nerozkládaly. Jako stabilizátor používáme heparin a plazmu uchováváme při –80 °C do dalšího zpracování¹⁵.

Extrakce

Extrakční kolonky je nutné nejdříve aktivovat a promýt 10% amoniakem a 2 ml 1% hydroxidu draselného v methanolu a poté 2 ml vody. Potom je možné uvést 0,5 ml plazmy nebo 0,5 ml vody na kolonku se standardními vzorky resp. slepým pokusem. Současně se na všechny kolonky uvádí vnitřní standard (IS) HMBA v množství 2 ng (74 nmol l⁻¹) na kolonku. Tento dávkovaný obsah

kolonek se okyslí 0,05% (9 mmol l⁻¹) kyselinou octovou (kvůli vyšší stabilitě analytů v kyselém prostředí¹⁵).

Dalším krokem je promytí extrakčních kolonek 2 ml 10 mmol l⁻¹ kyseliny octové v methanolu, poté 2 ml 20 mmol l⁻¹ fosforečnanu amonného o pH 8,5 a nakonec 2 ml vody.

Analyty zadržené na kolonkách nakonec eluujeme 2 ml 10% amoniaku v methanolu. Eluát poté odpařujeme ve vakuové odparce a odparek rozpustíme ve 150 μl mobilní fáze (MF) (cit.¹⁶). 100 μl roztoku nakonec dávkuje na kolonu kapalinového chromatografu.

Ředění standardů na ověření linearity

Aby bylo možné zhodnotit linearitu pro celou koncentrační oblast od nuly až po více než dvacetinásobek koncentrační hranice, nad níž se vyskytuje feochromocytom^{11,17}, změřili jsme šest bodů ve fyziologické oblasti koncentrací a také tři body nad hraniční koncentrací. Pro ověření fyziologické oblasti koncentrací jsme přidávali: 0; 4,4; 8,8; 13,2; 17,5; 22 pg (0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1 nmol l⁻¹) NMN a 0; 4,7; 9,4; 14; 18,7; 23,4 pg (0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1 nmol l⁻¹) MN. Pro oblast patologických koncentrací byla přidávána množství: 100, 250 a 500 pg (4,55; 11,38 a 22,76 nmol l⁻¹) NMN a 100, 250 a 500 pg (4,28; 10,70 a 21,39 nmol l⁻¹) MN (cit.¹¹).

Výsledky a diskuse

Validace metody

Opakovatelnost jsme určili desetinásobným opakovaným stanovením v jedné a téže směsné plazmě. Zmíněná stanovení byla provedena na třech hladinách¹⁷. První hladinou byla směsná plazma zdravých dobrovolníků s normálními hodnotami, druhou hladinu tvořila směsná plazma hypertoniků a poslední hladinu představovala hraniční koncentrace pacientů s nádorem. Zmíněná směsná plazma byla extrahována a měřena během jednoho dne jako měření za podmínek opakovatelnosti¹⁸. Výsledky jsou

Tabulka I

Opakovatelnost stanovení směsné plazmy metodou HPLC-ED změřená v rámci jednoho dne a reprodukovatelnost stanovení změřená po týdnu skladování

Skupiny pacientů	Způsob provedení (n=10)	Průměr ± směrodatná odchylka [nmol l ⁻¹]		Variační koeficient [%]	
		NMN	MN	NMN	MN
Zdraví dobrovolníci	opakovatelnost	0,49 ± 0,03	0,31 ± 0,01	6,1	4,4
	reprodukovatelnost	0,48 ± 0,04	0,28 ± 0,03	8,6	9,1
Pacienti s hypertenzí	opakovatelnost	0,55 ± 0,03	0,44 ± 0,02	5,7	4,9
	reprodukovatelnost	0,50 ± 0,04	0,43 ± 0,03	8,2	7,9
Pacienti s FEO	opakovatelnost	7,5 ± 0,6	3,8 ± 0,2	6,9	6,1
	reprodukovatelnost	6,6 ± 0,9	3,4 ± 0,4	13,0	12,2

uvedeny v tab. I. Z tabulky vyplývá, že opakovatelnost vyjádřená variačním koeficientem (CV) nepřekročila u NMN v žádné koncentrační hladině 6,9 %. Pro MN byla nejvyšší hodnota u pacientů bez nádoru 4,9 %, u pacientů s FEO pak 6,1 %.

Reprodukovatelnost jsme změřili desetinásobným opakovaným stanovením v jedné a téže směsné plazmě s několikadenními intervaly⁸ (měření za podmínek reprodukovatelnosti¹⁸). Výsledky jsou rovněž uvedeny v tab. I, z níž plyne, že variační koeficient těsnosti shody dosahoval u všech sledovaných koncentračních hladin vyšších hodnot, ale nepřekročil 13 % u žádné skupiny ani analytu. Zvýšení variačního koeficientu v případě reprodukovatelnosti plně odpovídá zahrnutí variability do výsledků (měření v různých dnech) a zároveň odpovídá požadavku na maximální hodnotu variačního koeficientu při měření přesnosti, kterou je 15 % (cit.¹⁹). Změřením opakovatelnosti i reprodukovatelnosti jsme získali představu o shodnosti (přesnosti) metody. Výsledky koreluji s literaturou^{8,10,11}. Lenders a spol.⁷ uvádí variační koeficient reprodukovatelnosti u skupiny pacientů se zvýšenými hodnotami analytů v plazmě až 16,3 %. Pagliari a spol.⁹ uvádí dokonce variační koeficient reprodukovatelnosti pro volný MN v plazmě více než 32 %.

Správnost (výťažnost) metody jsme ověřili pomocí známých koncentračních přídavek standardů (spolu s vnitřním standardem) ke vzorku směsné plazmy a zároveň ve stejném koncentračním rozsahu k 1,14% (0,2 mol l⁻¹) kyselině octové (k ověření stability analytů v kyselém prostředí). Standardní přídávky v plazmě i v kyselině octové jsme extrahovali postupem uvedeným výše. Koncentrační rozmezí přidávaných standardů pokrývalo oblast fyziologických koncentrací analytů v plazmě šesti body (0–1 nmol l⁻¹) a oblast patologických koncentrací dalšími třemi body (100, 250 a 500 pg na kolonku).

Zmíněné standardy jsme přidávali na kolonky v průběhu extrakce. Jednu kolonku se směsnou plazmou jsme ponechali bez přídávky (slepý pokus).

Každý jednotlivý standard (v plazmě a kyselině octové) jsme změřili 3×. Vnitřní standard HMBA byl ve všech vzorcích přítomen v koncentraci 74 nmol l⁻¹. Z těchto výsledků jsme získali kalibrační přímky.

Tímto způsobem testování jsme zjistili správnost pomocí výťažnosti, viz tab. II a zároveň i linearitu metody¹⁴, viz tab. III.

Výťažnost obou analytů vzhledem k vnitřnímu standardu HMBA se liší podle toho, zda jde o přídávky ke směsné plazmě nebo ke slepému vzorku (0,2 mol l⁻¹ kyselina octová). Zatímco výťažnost obou analytů z plazmy se pro celou sledovanou oblast koncentrací pohybuje mezi 96 a 125 % a v blízkosti koncentrační hranice dosahuje 96 %, výťažky z kyseliny octové jsou podstatně nižší (viz tab. II). Zejména v kritické oblasti koncentrační hranice nedosahuje výtěžek pro MN ani 55 %. Celková ztráta při extrakci se pohybuje mezi 30–40 %, tedy odpovídá výtěžku Lendersa a spol.⁷. Roden a spol.⁸ uvádí výtěžek obou analytů zjištěný metodou HPLC-ED vzhledem k vnitřnímu stan-

Tabulka II
Výťažnost stanovení přídavek standardů metanefrinů do směsné plazmy a kyseliny octové metodou HPLC-ED

Koncentrace [nmol l ⁻¹]	Směsná plazma		Kyselina octová (0,2 mol l ⁻¹)	
	střední ^a změřená koncentrace [nmol l ⁻¹]	výtěžek [%]	střední ^a změřená koncentrace [nmol l ⁻¹]	výtěžek [%]
<i>NMN</i>				
0,2	0,25	125	0,23	115
0,4	0,45	113	0,32	80
0,6	0,64	107	0,47	78
0,8	0,92	115	0,56	70
1	0,96	96	0,73	73
4,55	4,24	99	5,28	123
11,38	11,35	106	12,44	116
22,76	23,32	109	18,73	109
<i>MN</i>				
0,2	0,21	105	0,18	90
0,4	0,46	115	0,23	58
0,6	0,72	120	0,41	68
0,8	0,85	106	0,43	54
1	0,96	96	0,54	54
4,28	4,69	110	4,72	110
10,7	12,07	113	16,86	158
21,39	24,12	113	28,7	134

^a n=3

dardu HMBA 90–105 %, Lagerstedt a spol.¹⁰ dokonce 100 % pro NMN metodou LC-MS/MS. Roden ovšem neudává ztrátu analytů při extrakci. Vyšší výtěžek analytů z 0,2 mol l⁻¹ kyseliny octové proti jejich výtěžku z vody⁷ se nepotvrdil. Tím bylo zpochybněno předchozí tvrzení o zvýšené stabilitě analytů v kyselém prostředí a o vyšším výtěžku analytů při okyselení náplně kolonek v průběhu extrakce^{15,16}.

Kalibrační přímky obou analytů v plazmě vykazují vynikající linearitu přes celou koncentrační oblast (0 až 22,76 nmol l⁻¹ pro NMN, 0–21,39 nmol l⁻¹ pro MN). Koeficient determinace (R^2) pro přídávky NMN v plazmě dosahuje hodnoty 0,9995, pro MN dokonce 0,9999. Velmi dobré linearity bylo dosaženo rovněž při přídávku obou analytů do 0,2 mol l⁻¹ kyseliny octové, kde R^2 pro NMN je vyšší než 0,97, pro MN opět vyšší než 0,99 (viz tab. III).

Pro ověření platnosti publikované metody⁷ je důležité se orientovat na linearitu a citlivost metody. Linearita byla testována koncentračními přídávky standardů v rámci stanovení správnosti (viz výše). Z vynesných kalibračních

Tabulka III

Parametry lineární závislosti známé a změřené koncentrace přídavek standardů metanefrinů do směsné plazmy a kyseliny octové metodou HPLC-ED

Parametry lineární závislosti	Směsná plazma		Kyselina octová (0,2 mol l ⁻¹)	
	NMN	MN	NMN	MN
Směrnice, l nmol ⁻¹	1,086	1,129	0,924	1,399
Úsek na ose y	-0,069	-0,042	0,242	-0,334
Koeficient determinace (R ²)	0,999	0,999	0,977	0,991

křivek jsme určili směrnice, které jsme použili pro výpočet meze detekce (LOD) a meze stanovitelnosti (LOQ)^{14,20}. Pro určení uvedených mezí byly pro kalibrační závislosti vynášeny výšky píků místo jejich plochy. Druhým parametrem pro výpočet LOD a LOQ bylo určení maximálního kolísání základní linie v oblasti dané dvacetinásobkem pološířky píku stanovovaných analytů a to z chromatogramu slepého pokusu. Mez detekce jsme pak vypočítali pomocí podílu trojnásobku maximálního kolísání základní linie a směrnice zde uvedené kalibrační přímky. Mez stanovitelnosti byla počítána jako poměr desetinásobku maximálního kolísání základní linie a směrnice¹⁴.

LOD pro stanovení NMN v plazmě jsme určili jako 15 fmol při dávkovaném množství 100 µl neboli 150 pmol l⁻¹, pro MN je to 32 fmol ve 100 µl (320 pmol l⁻¹). LOQ pak odpovídá 50 fmol NMN ve 100 µl (500 pmol l⁻¹) a 110 fmol MN ve 100 µl (1,1 nmol l⁻¹). Výsledky plně odpovídají publikovanému článku⁷, který uvádí LOD 25 fmol NMN a 50 fmol MN metodou HPLC-ED. Roden a spol.⁸ určili LOD 11 fmol NMN a 17 fmol MN metodou HPLC-ED. LOQ pro oba analyty uvádějí autoři zhruba 10× nižší. Autoři neuvádějí způsob určení mezí. Pagliari a spol.⁹ určili cca 10× vyšší LOD (HPLC-ED), další autoři došli k řádově stejným hodnotám pomocí LC-MS/MS^{10,11}.

Ověřili jsme senzitivitu a specifitu metody. Senzitivita je definována jako pravděpodobnost, že výsledek stanovení bude metodou zařazen jako pozitivní u nemocných, specifita jako pravděpodobnost, že výsledek bude negativní u osob bez nemoci²¹. Sledovali jsme správně zařazení výsledků stanovení u 21 pacientů bez FEO (negativní) a 21 pacientů s nádorem (pozitivní) a výsledky porovnali s metodou stanovení volných katecholaminů v moči pomocí HPLC-FLD²². Ověření přítomnosti (nepřítomnosti) FEO bylo potvrzeno vyšetřením počítačovou tomografií (CT) nebo magnetickou rezonancí (MR), případně histologicky. Vypočítali jsme senzitivitu metod jako podíl správně pozitivních výsledků buď NMN (NA) nebo MN (A) a správně pozitivních výsledků jednoho z těchto analytů plus falešně negativních výsledků obou z analytů. Dále jsme určili spe-

cifitu metod jako podíl správně negativních výsledků obou analytů a správně negativních výsledků obou analytů plus falešně pozitivních výsledků buď NMN (NA) nebo MN (A).

Porovnáním výsledků metody stanovení volných plazmatických metanefrinů (HPLC-ED) s výsledky stanovení volných močových katecholaminů (HPLC-FLD) jsme zjistili, jak se výstupy obou metod shodují a zároveň ověřili jejich vypovídací schopnost, viz tab. IV. Ze 42 pacientů jsme metodou HPLC-ED na základě stanovení NMN v plazmě správně zařadili všechny pacienty. 21 pacientů bez FEO jsme stanovili jako negativní a 21 pacientů s FEO jako pozitivní. Stanovením MN jsme rovněž správně zařadili všechny pacienty bez FEO (negativní), ovšem pouze 13 z 21 pacientů s FEO jsme označili jako pozitivní. Výsledek odpovídá skutečnosti, že všech 8 pacientů špatně zařazených jako negativní vyšetřením MN mělo noradrenergní fenotyp FEO, tedy nádor zvýšeně produkující NA, případně NMN. Srovnávaná metoda HPLC-FLD správně zařadila všech 21 pacientů s FEO jako pozitivní vyšetřením NA. Čtyři pacienty bez FEO špatně zařadila jako pozitivní na základě stanovení NA a jednoho po stanovení A (tab. IV). Z uvedeného jsme vypočítali senzitivitu a specifitu obou metod na základě našich výsledků (viz výše). Zjistili jsme tak 100% senzitivitu i specifitu podle stanovení 42 vzorků metanefrinů z plazmy metodou HPLC-ED a 100% senzitivitu a 77% specifitu stanovením 42 vzorků katecholaminů z moči s použitím HPLC-FLD. Dříve publikovaná studie, která byla ovšem provedena s mnohonásobně vyšším počtem pacientů, uvádí senzitivitu a specifitu metanefrinů v plazmě 99 %, resp. 89 % a senzitivitu a specifitu katecholaminů v moči 86 %, resp. 88 % (cit.⁴).

Správnou identifikaci všech 42 pacientů metodou HPLC-ED se potvrdil význam zařazení pacientů s hypertenzí mezi normální kontrolní vzorky (fyziologické koncentrace pacientů bez FEO), viz níže. Pokud by se nepřidala skupina hypertoniků bez FEO mezi normální hodnoty, tři z výsledků (správně negativní) bychom špatně zařadili mezi pacienty s FEO (falešně pozitivní).

Tabulka IV

Počet správně zařazených pacientů z jejich celkového počtu jednotlivými metodami

Správně zařazení pacienti	Stanovení volných metanefrinů v plazmě (HPLC-EC)		Stanovení volných katecholaminů v moči (HPLC-FLD) či (HPLC-FLD)	
	NMN	MN	NA	A
<i>Pacienti bez FEO (n=21)</i>				
Negativní	21	21	17	20
<i>Pacienti s FEO (n=21)</i>				
Pozitivní	21	13	21	10

Určení fyziologických a patologických koncentračních rozmezí

Abychom mohli určit hranici mezi normálními (fyziologickými) a patologickými (u pacientů s nádorem) koncentracemi analytů, stanovili jsme analytické koncentrace metanefrinů od 15 zdravých dobrovolníků, 50 pacientů s hypertenzí a 26 pacientů s feochromocytomem.

Určili jsme koncentrační hranici mezi zdravými a nemocnými pacienty (tab. V). Pro upřesnění jsme kontrolní pacienty bez FEO (normální hodnoty) rozdělili na dvě skupiny, zdraví dobrovolníci a pacienti s hypertenzí. Tím jsme ověřili předpoklad, že kontrolní hodnoty pacientů s hypertenzí zasahují do mírně vyšších koncentrací než u zdravých. Zároveň jsme zjistili, že nejvyšší koncentrace NMN u normálních hodnot nepřesahuje nejnižší koncentraci NMN u pacientů s FEO. Tím jsme vytvořili koncentrační hranici. U MN se horní normální a spodní patologická koncentrace kryjí, což koreluje s předchozími publikacemi^{7,11}. Vzhledem k tomu, že u adrenergního fenotypu FEO (nádoru zvýšeně produkujícího A, případně MN) se u všech sledovaných pacientů nacházely výrazně zvýšené hodnoty MN a současně i hodnoty NMN byly zvýšené nad koncentrační mez, zmíněný fakt výsledky nezkrsluje. Porovnáním získaných referenčních intervalů s publikovanými jsme zjistili, že výsledky získané stejnou metodou (HPLC-ED) jsou velmi blízké^{7,10}.

Závěr

Metoda stanovení volných metanefrinů v plazmě HPLC-ED splňuje všechny požadované analytické parametry pro její validaci. Ověřením senzitivity a specificity při diagnóze jsme našli vynikající rozlišovací schopnost metody. V porovnání se stanovením volných katecholaminů z moči metodou HPLC-FLD má stanovení metanefrinů v plazmě vyšší specificitu, protože všichni pacienti bez FEO byli metodou správně zařazeni jako negativní, na rozdíl od srovnávané metody. Určili jsme referenční meze pro pacienty bez FEO (negativní) a s FEO (pozitivní). Prokázalo se, že je nezbytné zařadit hypertenzní pacienty mezi normální hodnoty, protože mírně zvyšují hraniční koncentraci a tím se zabrání vzniku falešně pozitivních výsledků.

Práce vznikla za podpory výzkumných záměrů Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České Republiky MSM 0021620807 a MSM 0021620808.

LITERATURA

- Eisenhofer G., Walther M. M., Huynh T. T., Li S. T., Bornstein S. R., Vortmeyer A., Mannelli M., Goldstein D. S., Linehan W. M., Lenders J. W. M., Pacák K.: *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86, 1999 (2001).
- Amar L., Servais A., Gimenez-Roqueplo A. P., Zinzindohoue F., Chatellier G., Plouin P. F.: *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 90, 2110 (2005).
- Eisenhofer G., Lenders J. W., Goldstein D., Mannelli M., Csako G., Walther M. M., Brouwers F. M., Pacák K.: *Clin. Chem.* 51, 735 (2005).
- Lenders J. W. M., Pacák K., Walther M. M., Linehan W. M., Mannelli M., Friberg P., Keiser H. R., Goldstein D. S., Eisenhofer G.: *J. Am. Med. Assoc.* 28, 1427 (2002).
- Goldstein D., Eisenhofer G., Flynn J. A., Wand G., Pacák K.: *Hypertension* 43, 907 (2004).
- Pacák K.: *Habilitační práce*. Univerzita Karlova, Praha 2002.
- Lenders J. W., Eisenhofer G., Armando I., Keiser H. R., Goldstein D. S., Kopin I. J.: *Clin. Chem.* 39, 97 (1993).
- Roden M., Raffesberg W., Raber W., Bernroider E., Niederle B., Waldhäusl W., Gasic S.: *Clin. Chem.* 47, 1061 (2001).
- Pagliari R., Cottet-Emard J. M., Peyrin L.: *J. Chromatogr.* 563, 23 (1991).
- Lagerstedt S. A., O'Kane D. J., Singh R. J.: *Clin. Chem.* 50, 603 (2004).
- Jong W. H. A., Graham K. S., van der Molen J. C., Links T. P., Morris M. R., Ross H. A., de Vries E. G. E., Kema I. P.: *Clin. Chem.* 53, 1684 (2007).
- Gao I. C., Lu H. K., Luo Q. Y., Chen L. B., Deng Y., Zhu R. S.: *Clin. Exp. Med.* 8, 87 (2008).
- Pacák K., Aguilera B., Saban E., Kvetnansky R., (ed.): *Stress Current Neuroendocrine and Genetic Approaches*, str. 582. New York Academy of Sciences, New York 2004.

Tabulka V

Rozmezí normálních a patologických koncentrací NMN a MN v plazmě

Skupina pacientů	Analyt	Rozmezí hodnot [nmol l ⁻¹]	Střed ± směrodatná odchylka [nmol l ⁻¹]
Zdraví dobrovolníci (n=15)	NMN	0,190–0,840	0,49 ± 0,24
	MN	0,073–0,563	0,35 ± 0,21
Pacienti s hypertenzí (n=50)	NMN	0,154–0,979	0,59 ± 0,18
	MN	0,153–0,915	0,43 ± 0,22
Pacienti s FEO (n=26)	NMN	1,355–41,682	12 ± 11
	MN	0,182–164,015	9 ± 25

14. <http://www.hplc.cz/index.html>, staženo 10. prosince 2007.
15. Willemssen J. J., Sweep C. G. J., Lenders J. W. M., Ross H. A.: *Clin. Chem.* 49, 1951 (2003).
16. <http://www.catecholamine.org/labprocedures/procedure/plasmamet.htm>, staženo 5. září 2007.
17. <http://www.scribd.com/doc/2353306/Guia-EurachemThe-Fitness-for-Purpose-of-Analytical-Methods>, staženo 10. prosince 2007.
18. <http://shop.normy.biz/detail-polozky.php?katcis=20617>, staženo 10. prosince 2007.
19. <http://www.fda.gov/cder/guidance/1320fnl.pdf>, staženo 10. prosince 2007.
20. Pacáková V., Štulík K.: *Vysokoučinná kapalinová chromatografie*. SPN, Praha 1986.
21. <http://new.euromise.org/czech/tajne/ucebnice/html/html/node5.html>, staženo 10. prosince 2007.
22. <http://www.cskb.cz/cksb.php?pg=doporuceni-validace-a-verifikace-metod>, staženo 10. prosince 2007.

A. Vránková, T. Škramlíková, J. Widimský Jr., T. Zelinka, O. Petrák, R. Holaj, B. Štrauch, J. Rosa, J. Škrha, and Z. Jůzová (*3rd Internal Department, First Faculty of Medicine and General Teaching Hospital, Charles University, Prague, Czech Republic*): **Determination of Metanephrine and Normetanephrine in Blood Plasma by HPLC with Electrochemical Detection**

Determination of catecholamines and their O-methyl metabolites, normetanephrine (NMN) and metanephrine (MN), in biological fluids plays an important role in the diagnosis of pheochromocytoma (PHEO) – chromaffin cells tumor. The aim of the study was to validate a HPLC-ED (Electrochemical Detection) method for the determination of MN and NMN in blood plasma and to compare the obtained data with those published previously. The ability of the proposed method to distinguish the patients with and without PHEO has been proved and the results were compared with the HPLC determination of free catecholamines in urine. Both methods interpret the results in relation to the presence of PHEO. Finally the concentration limits for patients with and without PHEO have been established. Analytical parameters of the method including the repeatability, accuracy, LOD, LOQ and reproducibility as well as its sensitivity and specificity in tumor diagnosis were determined. The hypertonic patients should be included in patients without PHEO as they increase the concentration limit. This helps to avoid false positive results.

SLEDOVANIE VPLYVU POSYPOVÝCH SOLÍ NA PROCESY V AKTIVAČNEJ NÁDRŽI

ELIŠKA HORNAKOVÁ^a, MILAN BÚGEL^b
a TOMÁŠ BAKALÁR^b

^a *Fakulta baníctva ekológie riadenia a geotechnológií,*

^b *Ústav montánných vied a ochrany životného prostredia, Fakulta baníctva ekológie riadenia a geotechnológií, Technická univerzita v Košiciach, Park Komenského 19, 043 84 Košice*

eliska.horniakova@tuke.sk, tomas.bakalar@tuke.sk, milan.bugel@tuke.sk

Došlo 6.3.09, prepracované 30.9.09, prijaté 1.10.09

Kľúčové slová: cestná posypova soľ, aktivačná nádrž, nitrifikácia, nitrifikačné baktérie

Úvod

Chemické zloženie suspenzie v aktivačnej nádrži čistiarnie odpadových vôd (ČOV) sa mení v dôsledku metabolizmu mikroorganizmov a súčasne s meniacim sa chemickým zložením pritekajúcej odpadovej vody. Chemické zloženie sa mení jednak počas dňa, podľa denného režimu obyvateľov a zároveň sezónne, podľa ročného obdobia a aktuálnych poveternostných podmienok. Mikroorganizmy sú adaptované na podmienky denného kolísania chemického zloženia. Šok mikroorganizmov je spôsobovaný aj záplavami a v obdobiach topenia snehu. V našich podmienkach sa zimná údržba ciest robí prevažne solením zmesou inertného materiálu s NaCl a v menšej miere využitím aj iných chemických prostriedkov^{1–3}.

V biologickom stupni čistenia v aktivačnej nádrži sú mikroorganizmami, hlavne baktériami, z odpadovej vody odstraňované organické a anorganické rozložiteľné látky.

Veľmi významnou zložkou odstraňovanou z odpadovej vody je amoniakálny dusík $N-NH_4^+$ a $N-NH_3$. V regeneračnej nádrži sa mikroorganizmy regenerujú a následne svojím metabolizmom rozkladajú suspenziu v aktivačnej nádrži. Nitrifikačné baktérie sú litotrofné, aeróbne a ich rastová rýchlosť, a tým aj ich metabolizmus, závisí od teploty kalu v aktivačnej nádrži. Optimálna teplota je 28–32 °C. Ak teplota kalu klesne pod 10 °C je nitrifikácia veľmi pomalá a pod 5 °C sa takmer zastaví.

Denitrifikačné baktérie sú organotrofné, anoxické a využívajú kyslík z dusičnanov a dusitanov. V tejto časti nádrže je kal miešaný. Organotrofné baktérie^{4–8} využívajú dusík dvoma spôsobmi:

– asimiláciou – syntézou bunkovej hmoty,

– disimiláciou – dusíkovou respiráciou, dusík je akceptor elektrónov.

V rámci zimnej údržby ciest sú vozovky ciest ošetrované suchým alebo navlhčeným inertným materiálom, alebo jeho zmesami s chemickým materiálom^{2,3}. Používané chemické posypové látky sú:

- chlorid sodný NaCl,
- chlorid vápenatý CaCl₂,
- zmes chloridu sodného a vápenatého,
- solanin (priemyselný názov) MgCl₂,
- tonacal (priemyselný názov)²,
- močovina (carbanit).

Pri počte zásahových dní nad 100 nesmie celkové množstvo chemických posypových materiálov použitých počas celého zimného obdobia presiahnuť 2 kg m⁻². Orientačná posypová dávka v meste je 100 g m⁻², maximálna posypová dávka je 500 g m⁻² (cit.²), závisí to však od momentálnych miestnych klimatických podmienok.

Posypové mechanizmy sú vybavené navlhčovacím zariadením s reguláciou dávkovania posypového materiálu a navlhčovacieho roztoku, ktoré zaručujú rovnomernosť posypu a navlhčenia materiálu v celej šírke posypu. Navlhčovací roztok sa pripravuje zásadne z NaCl, v chránených vodných oblastiach z CaCl₂, prípadne z iného materiálu, ktorý nezaťažuje životné prostredie^{2,3}.

V súčasnosti sa ako chemický posyp používa aj MgCl₂ v zmesi s inertným EkoPosypom, ktorý predstavuje zimný posypový materiál z prírodného zeolitu^{1,3}. Priemyselná posypová soľ na báze MgCl₂ je aj Biomag a Solmag.

Na Hlavnej ulici v Košiciach (pešia zóna) sa zimná údržba ciest v centre mesta robí práve ekologickým MgCl₂ a na iných miestach Košíc sa používa priemyselná posypová soľ (PPS) a kamenná soľ (KS)⁹. Obe majú takmer rovnaké chemické zloženie NaCl s tým, že PPS obsahuje ešte aj protispekavú prísadu E536 ferrokyanid draselný K₄[Fe(CN)₆], zároveň môžu obsahovať aj ďalšie anioagulyanty, ako sú E535 ferrokyanid sodný Na₄[Fe(CN)₆] a E538 ferrokyanid vápenatý Ca₂Fe(CN)₆. Tieto komplexné zlúčeniny patria pre svoju ťažšiu rozložiteľnosť medzi najmenej jedovaté zlúčeniny z kyanidov.

NaCl je známy tým, že zvyšuje vnútrobunkový tlak ľuďa a ľudia s hypertenziou by mali obmedziť solenie jedla. Rovnaký proces prebieha v celej živočíšnej ríši a tak v baktériách vplyvom NaCl dochádza k zvyšovaniu vnútrobunkového tlaku a následnej lýzii buniek. V čase topenia snehu sa dostáva studená a chemickým zložením zmenená voda kanalizáciou do aktivačnej nádrže ČOV. Jej vplyvom dochádza k chemickému a teplotnému šoku mikroorganizmov¹⁰ a následnej možnej lýzii buniek baktérií. Celý obsah bakteriálnych buniek sa vyleje do vody a kalu a určitý čas trvá, kým sa obnoví celková biocenóza mikroorganizmov v nádrži. Chlorid sodný neinhibuje rast biomasu, ale rýchlosť odstraňovania biomasy v reaktore závisí od výberu mikroorganizmov tolerujúcich soľ. Väčšina neadaptovaných druhov baktérií sa prestáva rozmnožovať v prostredí obsahujúcom nad 6–10 % NaCl (cit.^{11–16}). V našich podmienkach to však nie je možné, pretože vply-

vom cestných posypov nedochádza k takému výraznému zvýšeniu koncentrácie NaCl v odpadových vodách privádzaných do ČOV.

Soľ z ciest, ktorá vtiela do kanalizácie a následne do aktivačnej nádrže, sa prejavuje nárastom konduktivity suspenzie v nádrži. Konduktivita je dôsledkom celkovej soľnosti pritekajúcej odpadovej vody. Odrazom zvýšených hodnôt konduktivity sú zvýšené hodnoty amoniakálneho dusíka N-NH_4^+ v aktivačnej nádrži, signalizujúce zhoršené podmienky pre existenciu nitrifikačných baktérií¹⁷.

Hodnoty pH sú regulované v potrebnom rozsahu a tak nemajú vplyv na nitrifikáciu.

Experimentálna časť

V laboratórnych statických diskontinuálnych podmienkach bol sledovaný účinok vplyvu solí z posypových materiálov ciest na pochody v aktivačnej nádrži. Nepretržitým prevzdušňovaním boli zabezpečené aeróbne podmienky pre nitrifikáciu, teplota v reaktore bola ovplyvňovaná len teplotou miestnosti. Pochody v reaktore boli sledované v štyroch 15 l vedrách, v každom z nich bolo 10 l suspenzie odobratej z aktivačnej nádrže komunálnej ČOV, za týchto podmienok:

- bez prídavku zmesi solí,
- s prídavkom $0,5 \text{ g l}^{-1}$ zmesi solí,
- s prídavkom $1,0 \text{ g l}^{-1}$ zmesi solí,
- s pridaním $0,5 \text{ g l}^{-1} \text{ MgCl}_2$.

Pridané zmesi solí boli vytvorené podľa pomeru solí používanom v posypovom materiáli, ktorý mohol stiecť do kanalizácie počas odmäku z územia mesta¹⁸. Informácia o zložení posypových materiálov bola získaná od zamestnancov podniku ktorý sa stará o zimnú údržbu ciest v meste.

Používaná zmes solí sa skladá z 2 hm.% MgCl_2 , 49 hm.% KS a 49 hm.% PPS.

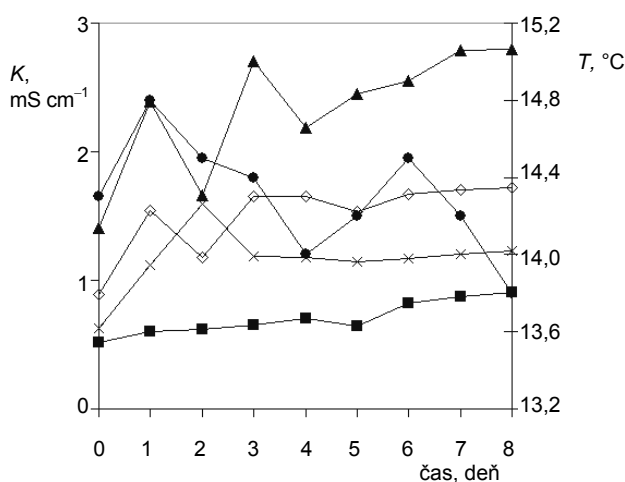
Počas pokusov bola sledovaná konduktivita, teplota v reaktore, CHSK, BSK, BSK₅, sodík, horčík a celkové chloridy. V prvý a v posledný deň bol vyhodnocovaný aj kalový index – KI (cit.¹⁹). Vo výsledkoch bol zohľadnený meniaci sa objem reaktora v dôsledku odberu vzoriek sledovanej suspenzie a jej odparu.

Konduktivita a teplota boli merané multifunkčným mobilným zariadením Hanna Combo HI98130. CHSK bolo stanovované dichrómanovou metódou z filtrátu 20 ml vzorky; stanovenia boli robené $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ koncentrácie $0,25 \text{ mol l}^{-1}$ (cit.¹⁹). BSK bolo merané oximetrom Oxi 538. Sodík bol stanovený z filtrátu vzorky atómovou absorpčnou spektrofotometriou na AAS Varian 240FS/ 240Z, Australia¹⁹. Horčík bol stanovený chelatometrickou titráciou zo 100 ml filtrátu vzorky chelátomom III koncentrácie $0,05 \text{ mol l}^{-1}$ (cit.¹⁹). Chloridy boli stanovené argentometricky z odfiltrovanej 100 ml vzorky titrované $0,05 \text{ mol l}^{-1} \text{ AgNO}_3$ (cit.¹⁹).

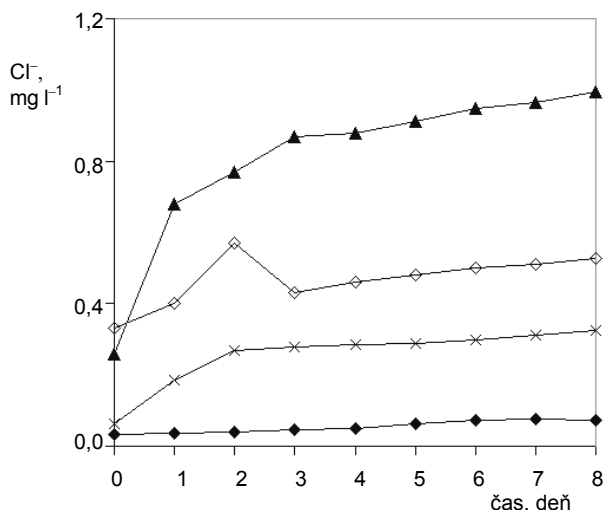
Výsledky a diskusia

Koncentrácie sodíka a horčíka vo všetkých štyroch reaktoroch vzrástli len minimálne, a to úmerne odparu.

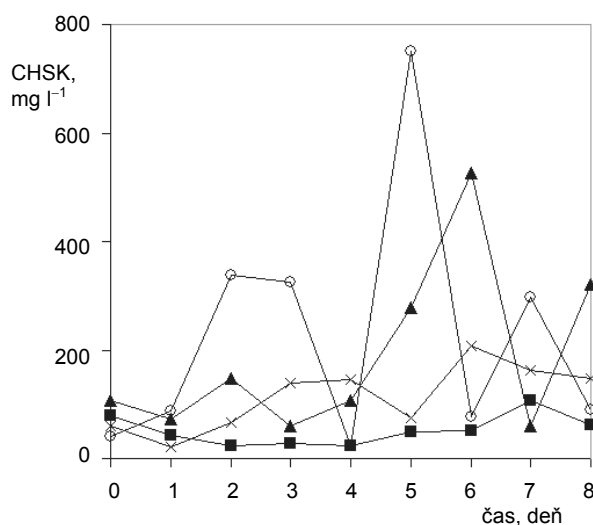
Hodnoty konduktivity suspenzie v sledovaných vzorkách vzrástli úmerne s koncentráciou solí hneď po ich pridaní, a zároveň aj s časom (obr. 1). Konduktivita suspenzie v reaktore sa menila v závislosti od druhu chemickej zložky cestného posypu. Pokles teploty v miestnosti, a následne aj v reaktore, spôsobil pokles vodivosti suspenzie v reaktoroch so zmesou kamennej, priemyselnej tech-



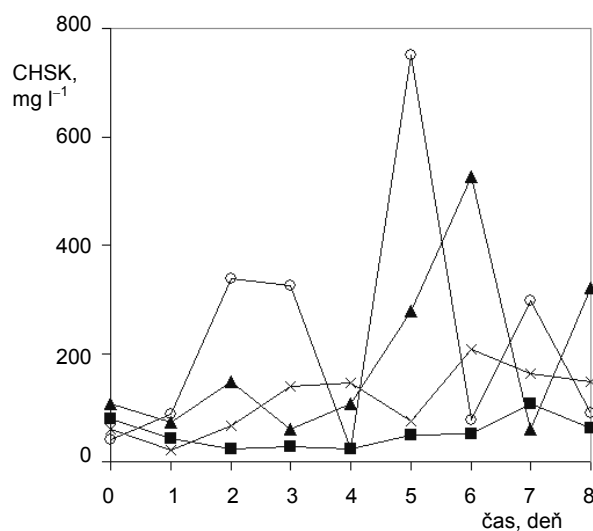
Obr. 1. Závislosť konduktivity K v jednotlivých reaktoroch na čas v súvislosti s teplotou, ■ bez soli, × MgCl_2 , ◇ $0,5 \text{ g l}^{-1}$, ▲ 1 g l^{-1} , ◆ teplota



Obr. 2. Závislosť množstva chloridov v jednotlivých reaktoroch na čas, ■ bez soli, × MgCl_2 , ◇ $0,5 \text{ g l}^{-1}$, ▲ 1 g l^{-1}



Obr. 3. Závislosť BSK v jednotlivých reaktoroch na čase, ■ bez soli, × MgCl₂, ◇ 0,5 g l⁻¹, ▲ 1 g l⁻¹



Obr. 4. Závislosť CHSK v jednotlivých reaktoroch na čase, ■ bez soli, × MgCl₂, ◇ 0,5 g l⁻¹, ▲ 1 g l⁻¹

nickej soli. Suspenzia s pridaným ekologickým cestným posypom MgCl₂ reagovala na teplotný pokles až o deň neskôr a jej hodnoty sa následne stabilizovali úmerne s odparom. Hodnoty konduktivity v reaktore bez pridania soli sa menili len úmerne odparu.

Po pridaní zmesi chemickej zložky cestného posypu vzrástol obsah celkových chloridov, no tento sa ďalej časom nemenil (obr. 2).

Do hodnôt BSK bola zahrnutá BSK₅ (obr. 3).

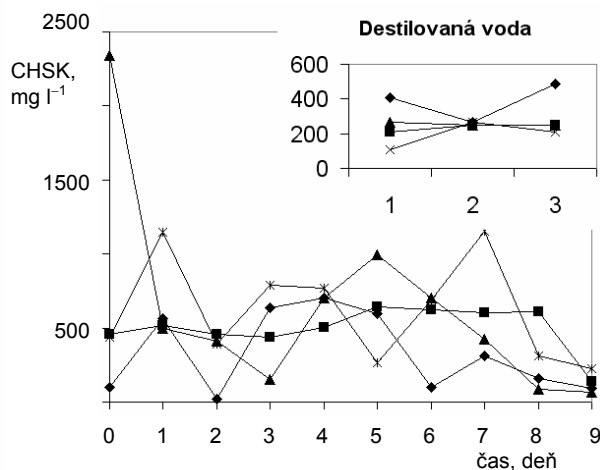
Tabuľka I

Hodnoty kalového indexu v reaktoroch

Reaktor	Objem vo valci [ml]	Kalový index [ml g ⁻¹]
Bez soli 0. deň	500	144
Bez soli, 9. deň	465	129
0,5 g l ⁻¹ zmesi, 9. deň	675	115
1 g l ⁻¹ zmesi, 9. deň	950	149
0,5 g l ⁻¹ MgCl ₂ , 9. deň	920	126

Hodnoty CHSK (obr. 4) vo vzorkách s prídavkom soli sa menili s časom na rozdiel od vzoriek s prídavkom soli. Túto skutočnosť je možné vysvetliť prídavkom protispekavej prísady E 536 použitej do zmesi kamennej a technickej posypovej soli.

Vplyv K₄Fe(CN)₆ na CHSK bol overený pridaním jodidovaných jedlých solí (červená a modrá) a priemyselnej posypovej soli v množstve 0,5 g l⁻¹ obsahujúcich 20 mg kg⁻¹ E536 do destilovanej vody a do vody z rieky Hornád. Do „červenej“ soli je prídávaný fluorid draselný KF v množstve 15–35 mg kg⁻¹ (cit.²⁰). Následne bolo stanovené CHSK dichrómanovou metódou, pretože táto metóda bola používaná aj pri stanovení CHSK v pokusoch. V destilovanej vode bolo CHSK dichrómanovou metódou stanovované len 3 dni, vo vode z rieky Hornád bolo stanovenie 10 dňové, nakoľko grafický priebeh CHSK týchto vzoriek (obr. 5) výraznejšie pripomína správanie sa E536 v suspenzii z aktivačnej nádrže. Kolísanie hodnôt CHSK



Obr. 5. Vplyv K₄Fe(CN)₆ na CHSK v riečnej a destilovanej vode, ■ bez soli, ◆ červená soľ, × modrá soľ, ▲ priemyselná soľ

mohlo byť ovplyvnené aj oxidáciou Fe^{2+} na Fe^{3+} v dichrómanovom prostredí stanovenia CHSK v odpadovej vode¹⁹.

Z objemu kalu v odmernom valci po 0,5 h sedimentácii je možné usudzovať o prechodnej deflokulácii²¹ vplyvom zvýšenej solnatosti. Hodnoty KI suspenzie poukazujú na mierne zhoršenú až zlú usaditeľnosť kalu vplyvom zmesi klasických posypových solí, pričom vplyv MgCl_2 bol nepatrný (tab. I).

Záver

Porovnaním hodnôt¹⁷ z dlhodobého sledovania konduktivity vody v ČOV a vplyvu cestných posypových solí v laboratorných podmienkach bolo zistené, že maximálne množstvo odpovedá $0,5 \text{ g l}^{-1}$ zmesi chemickej zložky cestného posypu, ktoré vtečie kanalizáciou do aktivačnej nádrže ČOV. Hodnoty zistenej konduktivity laboratorných vzoriek suspenzie od 0,89 do $1,72 \text{ mS cm}^{-1}$ sú zhodné s nameranými hodnotami konduktivity v ČOV počas odmäku. Množstvo cestnej posypovej soli 1 g l^{-1} zmesi bolo vysoké a prislúchajúca konduktivita maximálne $2,8 \text{ mS cm}^{-1}$ nebola potvrdená hodnotami konduktív nameraných v ČOV počas rokov 2003 až 2008. Vzhľadom na nízky obsah posypovej soli v odpadovej vode v aktivačnej nádrži nemohlo dôjsť k lýzii buniek baktérií¹⁰. Nitrifikačné baktérie dlhodobo adaptované na slané podmienky sú schopné prežiť a rozmnožovať sa aj v podmienkach s 20 mg l^{-1} NaCl a iných^{11–16} koncentráciách soli v odpadovej vode²², ale takéto podmienky sú len v prímorských krajinách.

VEGA 1/4184/07 Odstraňovanie iónov kovov nízkych koncentrácií z technologických roztokov využitím hybridných procesov, APVV-0068-07 Hybridná metóda odstraňovania iónov kovov nízkych koncentrácií z vôd.

LITERATÚRA

- Pietriková A., Búgel M., Neubauer M.: Silniční obzor 10, 263 (2005).
- <http://www.ssc.sk/sk/Udrzba-a-opravy/Technologia-zimnej-udrzby/Zmiernovanie-smyklavosti.ssc>, stiahnuté 16. 6. 2007.
- <http://www.opalfytos.sk/obchod/zeolit/galeria-vyrobkov>, stiahnuté 20.6. 2007.
- Zákon č. 364/2004 Z.z. o vodách a o zmene zákona Slovenskej národnej rady č. 372/1990 Zb. o priestupkoch v znení neskorších predpisov (vodný zákon).
- Droste R. L.: *Theory and Practice of Water and Wastewater Treatment*. Wiley, Canada 1997.
- Chudoba J., Dohányos M., Wanner J.: *Biologické čistenie odpadných vôd*. STNL, Praha 1991.
- Praus P.: *Habilitačná práca*. VŠB TU HGF, Ostrava 2002.
- Žáček L.: *Chemické a technologické procesy úpravy vody*. SNTL, Praha 1981.
- http://www.euromarsro.sk/cert2_.jpg, stiahnuté 18. decembra 2008.
- Zekeová-Nanáčková Z.: *Vplyv solnatosti na čistenie odpadových vôd aktivovaným kalom*. Veda, Bratislava 1976.
- Windey K., De Bo I., Verstraete W.: *Water Res.* 39, 4512 (2005).
- Chen G. H., Wong M. T.: *Environ. Eng.* 130, 116 (2004).
- Okabe S., Hisashi S., Watanabe Y.: *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 3182 (1999).
- Sanyo D., Hecnar S. J.: *Environ. Pollut.* 140, 247 (2006).
- Blasius B. J., Merritt R. W.: *Environ. Pollut.* 120, 219 (2002).
- Panswad T., Anan C.: *Water Res.* 33, 1165 (1999).
- Horniaková E., Búgel M.: *Acta Montanistica Slovaca* 12, 217 (2007).
- <http://www.cassovia.sk/dpmk/trace/>, stiahnuté 18. decembra 2008.
- Horáková M., Lischke P., Grünwald A.: *Chemické a fyzikálne metódy analýzy vod*. SNTL, Praha 1986.
- Solivary a.s.: *Varená jódovaná jedlá sol'*. Solivary, Prešov 2009.
- Výskumný ústav vodného hospodárstva Bratislava: *Inhibičné a toxické vplyvy na proces čistenia odpadových vôd*, Informačný list 2, 2 (2000).
- Hamoda M. F., Al-Attar I. M. S.: *Water Sci. Technol.* 39, 61 (2003).

E. Horniaková, T. Bakalár, and M. Búgel (*Institute of Mining Sciences and Environment Protection, Faculty of Mining, Ecology, Process Management and Geotechnologies, Technical University, Košice, Slovak Republic*): **Influence of Road Salts on the Processes in Activation Tanks of Wastewater Plants**

During snow melting, road salts get into the sludge in wastewater treatment. Chemical composition of solids in the activation tank changes depending on microorganism metabolisms and chemical composition of inflow wastewater. The electric conductivity in activation tanks as well as intracellular pressure in microorganisms increase. The amount of ammonia nitrogen in the settling tank also increases. The sedimentation of sludge decreases and the outflow water remains turbid. In the activated tank, the content of mixed road salts is 0.5 g l^{-1} .

CHEMICKÝ PRŮMYSL



EVROPSKÁ UNIE
EVROPSKÝ FOND PRO REGIONÁLNÍ ROZVOJ
INVESTICE DO VAŠÍ BUDOUCNOSTI



MATERIÁLOVÉ TECHNOLOGIE

ANTONÍN MLČOCH

České technologické centrum pro anorganické pigmenty a. s.,
Nábř. Dr. E. Beneše 24, 751 62 Přerov

V rámci České technologické platformy pro udržitelnou chemii ČTP SusChem byla připravena a úspěšně opnována finální verze Strategické výzkumné agendy jako vize pro další rozvoj chemie v České republice. Důležitou součástí této vize jsou i otázky související s novými materiálovými technologiemi, o nichž stručně pojednává tento článek.

Vývoj nových materiálů s vlastnostmi připravovaných na míru je jednou z cest pro naplnění Vize české chemie a je důležitým stimulem nového podnikatelského rozvoje v mnoha odvětvích průmyslu a k řešení naléhavých problémů lidstva, jako jsou zdraví, energetika, potraviny a voda. Potřeba budoucích technologií se promítá přímo do rostoucích požadavků na nové chemikálie a materiály s požadovanými vlastnostmi, metod jejich přípravy, nákladovosti jejich výroby a jejich recyklovatelnosti. Velké naděje se vkládají do budoucího využití tzv. „extremní nanotechnologie“, která zahrnuje manipulaci s atomy a molekulami. Jedná se o samoreplikující se a samosestavující se systémy, jenž mohou mít uplatnění v elektronice, lékařství, ve výrobě konstrukčních materiálů nebo nátěrových hmot.

Mezi cíle Strategické výzkumné agendy v oblasti materiálových technologií patří mimo jiné:

- připravit nové materiály a zajistit nové postupy pro využití obnovitelných a netradičních zdrojů energie,
- snížit energetickou náročnost provozu budov,
- vytvořit nové materiály s novými užitnými vlastnostmi, včetně nanomateriálů a nových metod diagnostik materiálů, nových polymerů a katalyzátorů.

Návrh Strategické výzkumné agendy je strukturován aplikačně se snahou posílit aspekt komercializace. Zahrnuje fotovoltaiku, efektivní světelné zdroje, moderní katalyzátory, spotřební zboží, nanokompozity, materiály pro zdravotnictví a plasty. Jednotlivé kapitoly vycházejí z analýzy významu oboru a situace v ČR (tj. existující výzkumná základna, potenciál budoucí komercializace,

přínos pro udržitelný rozvoj). Následně jsou definována prioritní výzkumná témata ve střednědobém a dlouhodobém horizontu.

Jak významně ovlivňuje legislativa rozvoj některých segmentů, vidíme dnes na fotovoltaice nebo efektivních světelných zdrojích. Pro zabezpečení dlouhodobě udržitelného rozvoje však potřebujeme vývoj podstatně levnějších a efektivnějších fotovoltaických článků a vývoj fotovoltaiky integrované do budov. Ve výzkumu se již dnes studuje několik variant řešení těchto problémů.

I malé zlepšení katalyzátorů může přinést zvýšení efektivity, snížení energetické náročnosti v chemickém a farmaceutickém průmyslu, snížit negativní dopady průmyslové výroby, energetiky a dopravy na životní prostředí. Významnou roli v potřebách moderních katalyzátorů hrají i požadavky na snížení emisí zdraví škodlivých plynů, jako jsou oxidy dusíku, VOC (těžké organické sloučeniny), komerční uplatnění fotokatalýzy apod. Průmysl požaduje výzkum metalocenových katalyzátorů, originální konstrukce katalyzátorů založených na nanočásticích a sebeuspořádjících se kov–organických komplexech.

Samotná technologie OLED (Organic Light-Emitting Diode) má ambice nejen v počítačové resp. vizuální technice, ale také například v osvětlení místností. Protože jsou náklady na jejich výrobu skutečně nízké, není problém vyrobit např. desku na celý strop místnosti, která v případě potřeby bude svítit. Takové osvětlení bude rovnoměrné po celé místnosti a nebude vrhat prakticky žádné stíny. OLED má také velmi malou spotřebu energie, a tak postupně nahrazuje klasické žárovky. Poptávka po televizích OLED roste. Pokud se televizím OLED podaří zbavit se dětských nemocí, především nízké životnosti, mohou v budoucnu nahradit LCD obrazovky.

Jedním ze základních cílů Vize české chemie je přispět ke zlepšení kvality života při zachování principů trvalé udržitelnosti. Aplikacemi moderních technologií, jako jsou nanotechnologie nebo biotechnologie, lze získat nové materiály a výrobky s vyšší přidanou hodnotou často při využití obnovitelných zdrojů surovin. Rozvoj moderní chemie významně iniciuje spotřební průmysl. Implementace moderní kontroly potravin a tzv. „smart“ (chytrých) obalů umožní lepší management skladování potravin a současně umožní zákazníkům prokazatelně určit kvalitu výrobků. „Smart“ obaly budou fungovat nejenom jako ochrana proti znečištění a proti oxidaci, ale budou fungo-

vat současně jako senzory kvality, což je efektivnější než udávání doby expirace.

Dalším aspektem je vývoj nových anorganických UV absorbérů jak pro kosmetiku, tak pro nátěrové hmoty, plasty a vlákna. Ochrana proti zdraví škodlivému UV záření je jedním z opatření pro zdraví lidí.

Moderní technologie významně ovlivní vývoj i v textilním průmyslu, ve výrobě nátěrových hmot, ve stavebnictví, ve výrobě sportovního nářadí apod. Příkladem využití nanočástic v těchto odvětvích může být výroba nemačkových a nešpinících se bavlněných tkanin, nebo rámu tenisových raket, které jsou zpevněny uhlíkovými nanotubicemi, povlaky odolné vůči poškrábání mající navíc samočisticí schopnost, nešpinavé antibakteriální a dezodorizační textilie pro autopotahe, inteligentní oděvy schopné monitorovat puls a dýchání či regulovat teplotu.

Kompozitní nanomateriály mají široké použití např. pro ukládání informací, magnetické chlazení, ferrofluidy, zobrazovací metody v medicíně, různé senzory, elektromechanické a magnetomechanické měniče, antiseptická vlákna. Kaučukovité nanokompozity mimořádných vlastností budou vyvíjeny pro gumárenské výrobky. Polymerní nanokompozity představují v současné době materiály, jejichž výzkum je v centru pozornosti řady výzkumníků díky jejich unikátním vlastnostem využitelným v celé řadě aplikací. Výzkum je hlavně zaměřen na nanokompozity pro automobilový a letecký průmysl, obalové materiály apod. Automobilový průmysl ověřuje možnosti využití polymerních nanokompozitů na výrobu dílů, které mají malou hmotnost a přitom velkou pevnost. Nanokompozity nacházejí efektivní využití i v medicíně nebo elektronice. Unikátní vlastnosti jsou využívány pro přípravu nové generace nátěrových hmot. V případě nátěrových hmot a povrchových úprav lze použitím nanoplňvin očekávat zlepšení odolnosti proti poškrábání, zlepšení tepelné odolnosti, vzrůst tvrdosti, zlepšení oděruvzdornosti, zlepšení bariérového efektu, zvýšení odolnosti proti UV záření, snížení koeficientu tření na povrchu úpravy, snížení hodnoty expanzního koeficientu, snížení prostupnosti vůči kapalinám, snížení hořlavosti. Je tak možné ovlivnit nejen životnost polymerního materiálu, ale tyto změny jsou extrémně důležité i z hlediska konečné aplikace takového materiálu.

Farmaceutický průmysl a medicína jsou významnými iniciátory inovací jak v materiállové, tak technologické

oblasti. Chemický průmysl by mohl být zdrojem ekonomicky dostupných základních materiálů, jako jsou speciální polymery, biomateriály nebo nanomateriály. Tyto materiály musí samozřejmě respektovat jeden ze základních požadavků medicíny, a to jak netoxičnost, tak biokompatibilitu.

Díky vynálezům Technické univerzity Liberec v oblasti nanovláken se rozvíjejí aplikace externích a interních krytů ran a popálenin, tkáňové separační materiály, různé materiály pro tkáňové inženýrství, v první řadě jako náhrada kůže, chrupavky a kostí, ale i jako náhrada různých funkčních tkání některých orgánů (např. jater a pankreasu) nebo nervových vláken.

Plastikářský průmysl v ČR prožívá v posledních letech nebyvalý rozvoj a jeho postavení se v rámci domácího zpracovatelského průmyslu neustále posiluje. Význam odvětví ještě vzrostl díky vazbě na dynamicky se rozvíjející automobilový a elektrotechnický průmysl. I přes přetrvávající silnou poptávku po výrobcích z plastů pociťují čeští výrobci a zpracovatelé rostoucí konkurenci na trhu. Výzvou pro výzkum jsou i společenské požadavky na biodegradabilní folie a plasty. Inovace jsou potřebné i ve výrobě a zpracování klasických komoditních plastů a kaučuku, kde má ČR významnou výrobní základnu.

Komeracionalizace nových materiálů a technologií vyžaduje dořešit i zásadní problémy standardizace metod pro stanovení míry rizik jejich výroby a aplikací, ale také v ověřování jejich nových vlastností. Zatímco zákazník se snadno přesvědčí o funkčnosti zakoupené žárovky, u řady nových funkcionalit (např. schopnost nátěrové hmoty odbourávat NO_x) takovou možnost obvykle nemá.

Tento článek vznikl v rámci projektu 5.1 SPTP01/005 "SusChem", podporovaného v rámci OP Podnikání a Inovace.

A. Mlčoch (Czech Technological Centre for Inorganic Pigments, Přerov, Czech Republic): **Material Technologies**

A strategic research program in the field of materials and material technologies is briefly described and discussed.

RECENZE



McMurry John E.:
**Fundamentals of Organic
Chemistry (Paperback)**

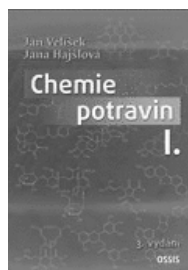
7. vydání, Brooks/Cole, Cengage Learning, 2010, 672 stran, brožovaná, cena \$69,35; £42,99. Kniha udává (c) 2011. ISBN-13: 978-1439049730

„Stručnou“ učebnici organické chemie by člověk špendlíčkem hrabal. I v sedmém vydání je tato učebnice stále na poměry „tenká“. Knižka, která je známá tím, že preferuje porozumění nad znalostí z paměti a ukazuje užitečnost i krásu organické chemie v každodenním životě. Zlepšená grafická úprava tohoto vydání, překreslené strukturní vzorce a doplněné obrázky (např. 100 potenciálových map molekul a mnoho znázornění orbitalů) přináší snadnější srozumitelnost, i když srdci recenzenta přece jenom neseďí „americký“ tón naprostého pomnutí předpisů IUPAC pro kreslení strukturních vzorců se stereogenními centry. Knižka obsahuje více konotací směřovaných na biologickou chemii (kapitolky „In the Medicine Cabinet“ a „In the Field“) a nové zkušební otázky, propojené se systémem OWL (Online Web-Based Learning, <http://www.cengage.com/owl/>) umožňují zpracovávat odpovědi na otázky po síti. Celá knižka je více orientovaná na snadné uchopení látky studenty a jejich motivaci, například pomocí provokativních příkladů. Obrazový materiál a barevný tisk usnadňují orientaci v knize.

John E. McMurry získal B.A. na Harvard University a Ph.D. na Columbia University. Je jedním z nejznámějších autorů učebnic organické chemie. Byl mnohokrát oceněn, např. National Institutes of Health Career Development Award, Alexander von Humboldt Senior Scientist Award, Max Planck Research Award a pod.

Knižku opět doporučuji jako velmi užitečnou pomůcku pro studium organické chemie od studia bakalářského výše.

Pavel Drašar



Jan Velíšek a Jana Hajšlová:
Chemie potravin

Vydalo nakladatelství OSSIS, Tábor 2009. Rozšířené a přepracované 3. vydání, 602 stran – 1. díl, 644 stran – 2. díl, 1246 stran, 2000 chemických vzorců, 500 obrázků, 300 tabulek. Měkká laminovaná šitá vazba. Cena 1090 Kč.

ISBN 978-80-86659-15-2 (1. svazek)

ISBN 978-80-86659-16-9 (2. svazek)

ISBN 978-80-86659-17-6 (oba svazky)

Renomovaný autor již dvou vydání učebnice Chemie potravin, prof. Jan Velíšek, přichází s novým, již třetím, tentokrát rozšířeným a přepracovaným vydáním, se spoluautorkou prof. Janou Hajšlovou. Chemie potravin, od jejíhož prvního vydání právě letos uplynulo 10 let, je rozsáhlým a přehledným souborem informací určených původně pro výuku studentů magisterských a doktorských studijních programů Fakulty potravinářské a biochemické technologie, Vysoké školy chemicko-technologické v Praze. Na více než 1200 stranách textu, přináší nejnovější informace z moderní potravinářské chemie a dalších souvisejících oblastí potravinářských věd a příbuzných oborů. Na jejím vzniku se podílel široký kolektiv spoluautorů. Kniha poskytuje čtenáři přehled současných poznatků o chemickém složení potravinářských surovin, potravin a dalších přírodních produktů. Vedle rozsáhlého přehledu fyzikálně-chemických, chemických a biochemických vlastností a významných reakcí, které probíhají při skladování, kulinárním a technologickém zpracování potravin, je pozornost věnována také různým aspektům jejich chemické bezpečnosti. Učebnice vychází ve dvou dílech, v jednotlivých kapitolách se zabývá aminokyselinami, peptidy a bílkovinami, tuky a jinými lipidy, sacharidy, vitaminy, minerálními látkami, vodou v potravinách, sensoricky aktivními sloučeninami, které ovlivňují vůni, chuť a barvu, dále jsou zahrnuty antinutriční a toxické složky potravin, přídatné (aditivní) a kontaminující látky, včetně technologických kontaminantů. V souvislosti se vstupem České republiky do Evropské unie došlo, a stále dochází, ke změnám v potravinářské legislativě a o tuto kapitolu byla tato publikace rozšířena. Věřím, že nalezne své čtenáře mezi studenty a učiteli vysokých a středních odborných škol zaměřených na potravinářství, mezi vědeckými pracovníky v potravinářském výzkumu a v příbuzných oborech, v kontrole potravin, ve výživě, stejně tak jako v technologické potravinářské praxi i mezi chemiky, kteří se zajímají o výskyt a vlastnosti přírodních biologicky aktivních sloučenin. Může posloužit také širší veřejnosti, motivovat zájem o přírodní vědy, dále jej rozšiřovat a prohlubovat.

Pavel Rauch.



Pavel Kadlec,
Karel Melzoch,
Michal Voldřich (editoři)
a kolektiv:
**Co byste měli vědět
o výrobě potravin? –
Technologie potravin**

Vydal KEY Publishing, Ostrava
2009 (1. vydání), 536 stran, cena
měkká vazba 620 Kč, v e-shopu
www.keypublishing.cz 525 Kč,

pevná vazba 650 Kč, v e-shopu www.keypublishing.cz
550 Kč.

ISBN 978-80-7418-051-4 (měkká laminovaná vazba
s černobílými obrázky v textu)

ISBN 978-80-7418-060-6 (pevná vazba s barevnými ob-
rázky v textu)

V únoru 2010 se objevila na knižním trhu nová kniha „Co byste měli vědět o výrobě potravin?“, podtitul Technologie potravin, kterou vydalo nakladatelství KEY Publishing pro Fakultu potravinářské a biochemické technologie Vysoké školy chemicko-technologické v Praze ve spolupráci s Českou technologickou platformou pro potraviny Potravinářské komory ČR a za podpory sponzorů, významných potravinářských podniků. Kniha je určena všem zájemcům o ucelené znalosti související s výrobou potravin a měla by sloužit nejen jako učebnice pro studenty potravinářského a příbuzného zaměření všech stupňů, ale také jako zdroj základních informací pro odbornou i laickou veřejnost.

Text knihy je souhrnným přehledem tradičních potravinářských technologií, rozděleným do 8 kapitol.

Úvodní kapitola Evropská technologická platforma pro potraviny shrnuje cíle, očekávaný vývoj a vize v oblastech potravinářského aplikovaného výzkumu, což je důležité především pro komunikaci mezi průmyslem a akademickou sférou z pohledu inovací a transferu moderních technologií a trendů do praxe.

Kapitola Obecné zásady výroby potravin uvádí obecné požadavky na suroviny (včetně geneticky manipulovaných organismů), jsou zde uvedeny principy úchovy potravin, charakteristika základních inženýrských, biochemických a mikrobiologických procesů v potravinářské výrobě, principy fermentačních technologií, je pojednáno o zdravotní nezávadnosti a jakosti potravin, principech kontroly jakosti, správné výrobní a hygienické praxi, úpravách pitné vody, problematice obalů a obalové techniky a o zpracování vedlejších produktů a odpadů.

Těžištěm knihy jsou kapitoly pojednávající o jednotlivých potravinářských komoditách:

Kapitola Konzervace potravin a technologie masa pojednává o zpracování ovoce a zeleniny, výrobě nealkoholických nápojů, zpracování masa, drůbeže, ryb a o výrobě masných výrobků včetně zpracování vedlejších jateč-

ních produktů, zpracování vajec a výrobě hotových jídel a lahůdek.

Technologie mléka zahrnuje vlastnosti mléka a jeho základní ošetření, výrobu tekutých, koncentrovaných a sušených mléčných výrobků, výrobu másla a mrazených smetanových krémů, zákysových kultur, fermentovaných mléčných výrobků, probiotik a prebiotik, tvarohů a sýrů.

Technologie olejů, tuků, detergentů a kosmetiky pojednává o výrobě olejů a tuků z rostlinných a živočišných surovin, o rafinaci a modifikaci olejů a tuků, včetně oleochemického využití olejů a tuků, výrobě mýdla, práškových a kapalných detergentů a kosmetiky.

Kapitola Fermentační technologie popisuje výrobu sladu, piva, lihu a lihovin, vína, droždí a octa.

Technologie sacharidů zahrnuje výrobu řepného cukru, čokolády, čokoládových a nečokoládových cukrovinek, mlýnskou technologii, výrobu pekárenských výrobků, těstovin, trvanlivého pečiva, snack výrobků, výrobu a zpracování škrobu a modifikovaných škrobů a výrobky ze sóji.

V kapitole Výroba pochutin a zpracování suchých plodů je pojednáno o zpracování kávy včetně kávových náhrad, o čaji, koření, o výrobě aromat a trestí a o zpracování oříšků a arašídů.

Na závěr každé kapitoly je uveden seznam doporučené literatury.

Pro všechny potravinářské obory, zpracovávající suroviny rostlinného i živočišného původu, má klíčový význam sledování vlastností vstupních surovin z hlediska chemického, fyzikálního, a biologického. Při vlastním zpracování se uplatňují inženýrské procesy, jejichž cílem je optimalizace technologických postupů a řízení s ohledem na šetrnost zpracování, ekologii i nízkou energetickou náročnost. Konečné výrobky pak jsou hodnoceny z hlediska výživových hodnot, hygienicko-toxikologické bezpečnosti, senzoryky a zdravotní nezávadnosti. Vedle oblasti technologické, kontroly jakosti, vývoje a inovace výrobků je pro prosperitu odvětví významná oblast obchodní, včetně marketingu surovin a konečných výrobků.

Autory jednotlivých kapitol jsou pedagogové Fakulty potravinářské a biochemické technologie Vysoké školy chemicko-technologické v Praze, kteří jsou zároveň špičkovými odborníky v dané oblasti a garanty jednotlivých oborů.

Po přečtení knihy získá čtenář základní znalosti o výše uvedených potravinářských technologiích, které by měli ovládat nejen odborníci pracující v potravinářském průmyslu a příbuzných oborech, ale i spotřebitelé a laická veřejnost, kteří jsou „uživateli“ (konzumenty) potravinářských výrobků. Kniha však nemůže nahradit „živé“ přednášky a kontakt s pedagogy (předními odborníky v jednotlivých komoditách), ani podrobné monografie. Zájemcům o hlubší studium a práci v oboru lze doporučit studium některého z bakalářských či magisterských studijních programů/oborů na Fakultě potravinářské a biochemické technologie Vysoké školy chemicko-technologické v Praze, v rámci kterého absolvují specializované předměty.

Pavel Rauch.

Jan Vymětal:

Informační zdroje v odborné literatuře

Vydal Wolters Kluwer ČR, Praha 2010. 1. vydání, 433 str., 499 Kč.

ISBN 978-80-7357-520-5

Tématice komunikací a informací se autor věnuje soustavně, o čemž svědčí jeho předchozí knihy (Úvod do studia odborné literatury, ORAC, 2000; Odborná literatura a informace v chemii, ORAC 2001; Informační a znalostní management v praxi, LexisNexis, 2006; Průvodce úspěšnou komunikací, Grada, 2008). Je proto logické, že na dosud zpracovanou tematiku navázal systémově i touto publikací, zaměřenou především na informační zdroje. Autorovým záměrem je, aby kniha posloužila jak odborníkům, kteří při studiu byli nedostatečně seznámeni s tím, jak pracovat s informacemi, tak i dnešním studentům, kteří se této základní dovednosti potřebují naučit. Publikace přitom uvádí velmi přístupnou formou návody nejen jak provádět „pasivní“ vyhledávání a využívání informací z nejrůznějších zdrojů, ale také jak „aktivně“ vytvářet tyto informační zdroje, tj. publikace různého druhu. Autor zde zúročil své bohaté zkušenosti jak z oblasti výzkumu, tak i z vedení odborného informačního střediska a technické knihovny.

Knih je velice systematicky a logicky rozčleněna do 12 kapitol. Po stručném úvodu následuje kapitola „Současné informační prostředí“, popisující velice důkladně a z různých hledisek aktuální stav informační společnosti. Stranou nejsou ponechány ani vývojové fáze a vývojová rizika této společnosti. Vlastní text je vhodně doplněn četnými grafy i tabulkami. Situace v České republice je zde popisována v globálním kontextu. Zmíněna je i informační věda, včetně příslušné normalizace a odborné terminologie.

Další kapitola se zabývá „Informačním procesem“, přičemž postupuje vývojově od „dat“ přes „informace“ ke „znalostem“, a dále k „řízení informací“ a „řízení znalostí“. Kapitola „Struktura informačních zdrojů“ i přes svou stručnost dokonale popisuje základní zdroje podle různých hledisek. Jednotlivým informačním zdrojům jsou pak věnovány samostatné kapitoly, první z nich se zabývá „Primárními informačními zdroji“. Toto téma si vyžádalo větší rozsah kapitoly, která má 9 podkapitol, často členěných ještě podrobněji, takže celkem je zde podrobně popsáno na 30 druhů informačních zdrojů.

Následující kapitola je určena především těm, kdo chtějí publikovat. Nese název „Zásady přípravy některých primárních zdrojů“ a přináší velmi praktické návody pro zpracování článků, přednášek, výzkumných a vědeckých zpráv či patentových přihlášek.

Kapitola „Sekundární informační zdroje“ a „Terciární informační zdroje“ uvádějí nejprve základní pojmy vyskytující se při práci s těmito zdroji a dále se podrobněji zabývají hlavními typy těchto informací. Text je opět vhodně doplňován praktickými příklady a tabulkami. Následuje stručný, ale výstižný přehled „Ostatních informačních

zdrojů“, přičemž tento výčet se neomezuje jen na zdroje papírové či elektronické, ale zmiňuje neméně cenné zdroje „lidské“.

„Informačním zdrojům v elektronické formě“, se kterými se v současnosti uživatelé setkávají patrně nejčastěji, je věnována po zásluze samostatná kapitola, která opět na toto téma nahlíží z různých hledisek. Následuje popis „zdrojů informačních zdrojů“ čili „Odborných knihoven a informačních pracovišť“.

Závěrečná kapitola „Strategie vyhledávání informací a jejich zpracování“ představuje úvod do této tematiky.

Knih je doplněna dvěma přílohami – „Výkladovým slovníkem z oblasti informačních služeb“ a funkcí a přehledem „Kódů zemí používaných v patentové literatuře“. Následuje Seznam použitých informačních zdrojů (celkem 163), Seznam použitých zkratk a Rejstřík.

Bylo by chybou, kdyby potenciálního čtenáře odradil poměrně značný rozsah této knihy, která danou tematiku pojednává opravdu komplexně a důkladně. Praktický každý uživatel si v ní najde oblast, která ho nejvíc zajímá, či se kterou se potřebuje podrobněji seznámit. Autor píše velice čtivě a vhodně kombinuje odbornou teoretickou část s praktickými návody. Menší výtka se může týkat snad jen poněkud stručnější závěrečné kapitoly, pojednávající o vyhledávání a zpracování informací.

Knih sama o sobě je tak velmi dobrým informačním zdrojem, kde čtenář na jednom místě nalezne informace, které by jinak musel čerpat z řady různých zdrojů. Proto ji lze doporučit jak odborníkům, kteří se informacemi zabývají profesionálně, tak i běžným uživatelům, ale zejména studentům jakéhokoliv oboru, protože práce s informacemi je v dnešní době naprostou nezbytností a čím dříve a lépe se jí člověk naučí, tím lépe bude zvládat tento celoživotní úkol.

Boris Škandera

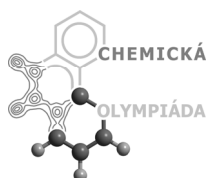
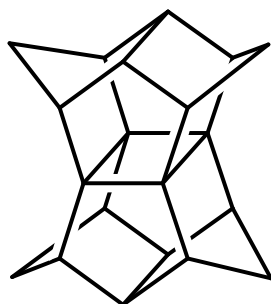


BULLETIN

ASOCIACE ČESKÝCH CHEMICKÝCH SPOLEČNOSTÍ

Ročník 41

Číslo 2



Český komitét
ČKCH
pro chemii

ČSCHI

ČESKÁ SPOLEČNOST CHEMICKÉHO INŽENÝRSTVÍ
CZECH SOCIETY OF CHEMICAL ENGINEERING



Obsah Chemické listy 2010, číslo 2 a 3

ČÍSLO 2/2010

ÚVODNÍK 85

REFERÁTY

Metody předpovědi koloidní stability piva 86

M. Dienstbier, L. Janková, P. Sladký a P. Dostálek

Steroidní fytohormony: funkce, mechanismus 93

účinku a význam

M. Kamlar, O. Uhlík, L. Kohout, J. Harmatha a T. Macek

Validované počítačové modely – Quantitative 100

Structure – Activity Relationship Tool Box

M. Rucki a M. Tichý

Protirakovinové taxánové přírodní látky 103

M. Maruna, M. Šturdíková a P. Ondřejíčková

Nebezpečný patogen *Enterobacter sakazakii* 113

a jeho detekce

M. Blažková, L. Fukal a P. Rauch

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

Nový plynovochromatografický dávkovací 119

priestor pre metódu ihlového adsorpčního

koncentratora

J. Hrivňák a E. Král'ovičová

Využití fotovoltaiky na výrobu vodíka 122

elektrolýzou vody

A. Klenovčanová, T. Brestovič a I. Imriš

ZPRÁVY 130

RECENZE 131

ČÍSLO 3/2010

ÚVODNÍK 137

REFERÁTY

Nanokompozity polyamidů s vrstevnatými silikáty 138

R. Puffr a J. Brožek

Termodynamické vlastnosti směsných oxidů 147

v systému CaO-SrO-Bi₂O₃-Nb₂O₅-Ta₂O₅

J. Leitner, M. Hampl, D. Sedmidubský, K. Růžička a P. Svoboda

CENA MERCK

Konformační studie poly- γ -benzyl-L-glutamátu 161

metodou vibračního cirkulárního dichroismu

P. Novotná M. Urbanová

Aplikace mikroextrakce tuhou fází pro analýzu 166

bylinných silic

V. Mlejová, P. Pavlíková, P. Dobiáš, M. Adam

a K. Ventura

Fracionace stopových prvků v listech vrby 172

(*Salix spp.*)

K. Mališová, O. Mestek, J. Komínková, J. Šantrůček,

J. Száková a P. Tlustoš

Elektrochemická detekce mRNA izolované 177

z rostlinných pletiv za využití paramagnetických

mikročásteč

D. Hůska, V. Adam, L. Trnková a R. Kizek

Voltametrické stanovení 1-nitropyrenu 186

a 1-aminopyrenu na borem dopované diamantové

filmové elektrody

O. Yosypchuk, K. Pecková a J. Barek

Stanovení aminobifenyly v pitné a v říční vodě 191

HPLC s elektrochemickou detekcí pomocí borem

dopované diamantové filmové elektrody

L. Maixnerová, K. Pecková, J. Barek a H. Klímová

Použití automatizované elektroforézy na čipu 197

pro studium laktoferinu a matrixových

metaloproteinás

O. Zítka, S. Křížková, V. Adam, A. Horna,

J. Kukačka, R. Průša, V. Žižková a R. Kizek

Sledování způsobu vazby modelových látek 202

na nanočástice stříbra

P. Žvátora, P. Řezanka, K. Záruba a V. Král

RECENZE 208

PALIVA A MAZIVA V POČÁTCÍCH AUTOMOBILISMU

JAROSLAV ČERNÝ

*Ústav technologie ropy a alternativních paliv, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
jaroslav.cerny@vscht.cz*

Klíčová slova: automobil, motor, palivo, motorový olej, údržba

Obsah

1. Úvod
2. Dvacátá léta 20. století
 - 2.1. Benzin
 - 2.2. Dieselové palivo
 - 2.3. Noční můry
 - 2.4. Výběr motorového oleje
 - 2.5. Převodový olej
 - 2.6. Servisní péče o automobily
 - 2.7. Kvalita motorových olejů
 - 2.8. Rozbory a hodnocení olejů
 - 2.9. Síra v palivech a olejích
3. Třicátá léta 20. století
 - 3.1. Pokrok v materiálech a konstrukci motorů
 - 3.2. Viskozitní třídy olejů
 - 3.3. Dieselové motory
 - 3.4. Plastická maziva
4. 2. světová válka a poválečná léta
 - 4.1. Benzin
 - 4.2. Základové mazací oleje
 - 4.3. Motorové oleje a aditiva
 - 4.4. Syntetické oleje
 - 4.5. Standardizace kvality motorových olejů
5. Závěr

1. Úvod

Běžný motorista a uživatel dopravních prostředků je již zvyklý na vysokou kvalitu dnešních paliv a na stále se prodlužující výměnné lhůty motorových olejů, jejichž kvalita je již více než výborná. Velké zásahy do složení i kvality paliv a motorových olejů přinesly v poslední době ekologické požadavky. Přes některá nutná omezení koncentrace důležitých prvků (S, P, sulfátový popel) v motorových olejích se podařilo jejich kvalitu udržet. Zejména v Evropských zemích je vysoká kvalita motorových olejů diktována také požadavky marketinkových útvarů. Ty kladou velký důraz na pohodlí provozovatelů motorových prostředků a vyžadují po konstruktérech mo-

torů stále delší servisní intervaly a tím i výměnné lhůty motorových olejů.

V tomto stále se vyvíjejícím a měnícím se prostředí se jen velmi těžce uchovává historická paměť. A naopak, některé „pravdy“ a pověry se stále udržují mezi laickou i odbornou veřejností, i když pro ně není nejmenší důvod. Tento přehledný článek si klade za cíl připomenout některé aspekty použití paliv a maziv z dob počátků automobilismu. Některá fakta nám z dnešního hlediska budou možná připadat směšná, u jiných překvapí, že jsou známé již dlouhou dobu, ačkoliv mnozí je mohou považovat za výdobytky posledních desetiletí.

Článek je řazen do tří kapitol, které vždy sledují určité časové období a zmiňují nejdůležitější vývoj v oblasti kvality paliv a maziv v tom kterém období. Současně jsou také zmíněny některé zásadní aspekty vývoje v oblasti konstrukce motorů, které následně ovlivnily kvalitu paliv a maziv. Naprostá většina informací byla čerpána z archivu magazínu Lubrication z let 1920–1950, který byl po omezenou dobu volně přístupný na internetových stránkách spravovaných společností Chevron¹.

2. Dvacátá léta 20. století

První automobily na přelomu století byly dílem několika nadšenců. O dvacet let později se ještě zdaleka nedá hovořit o nějaké sériové výrobě, přesto už existovaly zavedení výrobci automobilů přesto, že výroba byla nadále dílenská a individuální. Dvacátá léta znamenala období, kdy se automobily pomalu začaly zařazovat mezi prostředky potřebné k lidskému životu a rozvoji. I když zpočátku byly automobily jen zábavou pro volný čas, postupně se staly neodmyslitelně spojené i s podnikáním a reprezentací firmy či osob. Stejně jako ve dvacátých letech nastala změna v chápání užitečnosti automobilů, stejně tak probíhal technický rozvoj. Nejen v oblasti konstrukce motorů, ale i v oblasti paliv a maziv.

2.1. Benzin

Už na počátku 20. let došlo k podstatné změně složení benzínu, který poháněl většinu motorů. Zvyšující se počet automobilů způsobil, že benzínu bylo najednou málo a to donutilo výrobce paliv, aby z uhelného dehtu či z ropy získávali větší množství paliv než doposud. Zvýšení produkce bylo částečně zajištěno tím, že se začaly rozvíjet krakovací procesy, při nichž se z těžkých složek ropy získávaly složky lehké (podobně se získával uhelný dehet z uhlí – pyrolýzou). Jenže ani to nestačilo. Další množství benzínu se zajistilo tím, že se rozšířilo destilační rozmezí primární benzinové frakce a v benzínu se tak začaly objevovat složky s vyšším bodem varu.

Místo velmi lehkého benzínu, který se v karburátoru velmi snadno odpařoval, byl najednou k dispozici benzin, který obsahoval i těžké složky. V této době vznikl benzin tak, jak ho známe dnes. Tedy pouze pokud se týče destilačního rozmezí přibližně mezi 40 až 200 °C. Jinak oktanové nároky dnešních benzinů jsou samozřejmě jiné než před téměř sto lety. V dnešních benzinech se již žádné složky z primární destilace ropy neobjevují.

Přítomnost těžších složek v benzinech ale přineslo technické problémy. Z karburátoru do válce přecházelo méně benzinových par a v chladném počasí byly zásadní problémy se startováním motoru. V této době proto začaly být populární sytiče, přiškrcení přívodu vzduchu, vyhřívání karburátoru alespoň na 40 °C či napumpování paliva před startem studeného motoru přímo do válce. To vše s cílem zajistit dostatečný tlak benzinových par pro spálení ve válci. U jízdu zahřátého motoru už tyto problémy byly mnohem menší.

Další technický problém, který přinesla změna ve složení benzínu, bylo pronikání benzínu do motorového oleje, jeho ředění palivem a tedy zásadní vliv na mazání. Tomuto tématu bude věnována samostatná kapitola.

2.2. Diesellové palivo

V dnešní době máme na kvalitu nafty velmi náročné požadavky jak z hlediska technického, tak i z hlediska ekologického. V této souvislosti jsou jistě zajímavé požadavky na palivo pro diesellové motory z 20. let:

- dostatečná tekutost a čerpatelnost pro spolehlivou dodávku paliva do motoru bez nutnosti předeřívání,
- palivo nesmí obsahovat sediment, který by ucpával síta, čerpadlo, vstříkovací zařízení, trysky, dopravní cesty nebo který by významně zvyšoval otěr válce,
- mělo by být zbaveno vody, co nejvíce to jde; důvodem je nejen negativní vliv na zapálení směsi ve válci, ale i snížená výhřevnost paliva,
- obsah síry by měl být tak nízký, jak je to jen možné; důvodem je tvorba korozivních kyselin při spalování; vysoký obsah síry může mít špatný vliv zejména na výfukové ventily,
- tvorba popela po spálení paliva by měla být co nejnižší – důvodem byly silné abrazivní účinky tvrdých částic popela na píst a stěny válců,
- obsah těkavých složek by měl být co nejnižší vzhledem k bezpečnosti skladování.

Na těchto požadavcích je zajímavé to, že nikde se neobjevuje žádné číslo. Žádná vlastnost není ničím limitovaná jako dnes. Jediná publikovaná čísla se týkala podílu těžkých a nedestilovatelných olejů v diesellovém palivu (tehdy se pojem nafta ještě nepoužíval). Tohoto podílu by nemělo být více než 5 %. Obsah síry v tehdejších diesellových palivech se pohyboval obvykle do 3 %. Regulace množství síry v palivu tehdy nebyla jednoduchá. Neexistovaly rafinační technologie, jaké známe dnes. Jediný způsob regulace tak spočíval ve výběru suroviny, ze které se palivo pro diesellové motory vyrábělo:

- ropná surovina má podle svého původu velmi odlišný obsah síry, volbou zdroje ropy tak bylo možné regulovat obsah síry v palivu,
- uhelný dehet byl tradiční zdroj benzínu a jiných paliv, dehet z černých uhlí však byl jako zdroj paliva pro diesellové motory nepříliš vhodný; důvodem bylo obtížné vznícení a černouhelné palivo bylo proto míseno s ropným palivem; vhodné vlastnosti naopak mělo palivo získané z hnědouhelného či lignitového dehtu,
- rostlinné oleje, jejichž nevýhodou byla příliš vysoká cena a byly využívány jen v tropických oblastech s vlastní levnou výrobou rostlinného oleje a současně při nedostatku paliva z ropy či uhelného dehtu.

Stojí ještě za připomenutí, že diesellové motory tehdy nebyly v automobilové dopravě příliš využívány. Pouze nejtěžší nákladní automobily byly vybaveny tímto motorem. Větší využití měl Diesellov motor jako stacionární zdroj energie či jako lodní motor.

2.3. Noční můry

Ve dvacátých letech minulého století se každý, kdo se alespoň trochu zajímal o motory, musel nutně setkat s několika nepříjemnostmi, které se pro něj staly noční můrou. Tehdy to však motoristé brali jako nutné záležitosti, které k provozování motoru patří. Těmito nepříjemnostmi byly především ředění motorového oleje palivem, tvorba karbonu ve spalovacím prostoru a nečistoty v mazacím oleji.

Palivo v oleji

Začátkem dvacátých let se změnila kvalita paliva, které bylo najednou mnohem méně těkavé. Při studených startech se začaly používat sytiče, přiškrcoval se přívod vzduchu nebo se před startem nastříkovala dávka benzínu přímo do válce. Těžší složky benzínu se v karburátoru neodpařily a ve formě kapek přecházely do válce. Viskozita motorového oleje tak postupně klesala až do té míry, že vážně hrozilo nebezpečí zadření pístu ve válci.

Každý mechanik se tehdy snažil nastavit karburátor tak, aby dal co možná nejchudší směs a aby tak bylo zpomaleno ředění oleje benzinem. Zapomenutý otevřený sytič nebo přivřený přívod vzduchu pak mohl mít pro motor závažné důsledky. Dnes již pozoruhodné doporučení také bylo, že motorista by se měl vyvarovat provozu automobilu s jedním nebo více nefunkčními válci.

Po několika letech velkých obav z ředění oleje palivem a po množství testů a zkoušek se nakonec žádné velké tragické důsledky neprojevíly. Při správné péči o olej se zamezilo nadměrnému zředění včasnou výměnou oleje a i sám motor si pomohl. Část benzínu z oleje se přece jen odpařovala a množství benzínu v oleji tak většinou nepřesáhlo přijatelnou mez.

Karbonové usazeniny ve válci

Kvalita tehdejšího benzínu jistě nebyla nijak výstavní. Není tedy divu, že tepelné namáhání nespáleného benzínu

ve válci mělo svůj důsledek i v tom, že těžší složky benzínu ve válci karbonizovaly a vytvářely černý karbonový povlak ve spalovacím prostoru. Používání sytiče a tvorba bohatší směsi při studeném startu pak měla za následek černý kouř, který se táhnul za mnohým tehdejšími automobily. Jak musely vypadat tehdejší spalovací prostory možná raději ani nevidět.

Stejně jako v mnoha případech dnes, i tehdy bylo zakarbonování spalovacího prostoru přisuzováno motorovému oleji. V tom se doba příliš nezměnila. Jenže už před 80–90 lety se zjistilo, že za zakarbonovaný spalovací prostor je zodpovědné spíše palivo než motorový olej. To však neznamená, že motorový olej nepřispíval k tvorbě karbonu ve válci. Zejména při tehdejší těsnosti pístních kroužků, kdy se palivem naředěný olej snadno dostával přes ne příliš těsné pístní kroužky do spalovacího prostoru. Také kvalita oleje ani zdaleka nebyla jednotná.

Nečistoty a sediment v motorovém oleji

Nečistoty v motorovém oleji jsou velmi nebezpečné i dnes. Jenže dnes se proti nim dovedeme alespoň načas bránit. Dříve bylo v obecném povědomí, že nečistoty v motorovém oleji pocházejí ze spalování paliva, že jde o nějakou formu sazí nebo jinak vytvořeného karbonu. Mělo se také zato, že takto vytvořený karbon v oleji je jemný a měkký a motoru příliš nevadí. Avšak zadřené písty ve válci a zničená ložiska byl běžný fenomén tehdejších automobilů.

Jenže už tenkrát odborníci varovali, že se nejedná pouze o měkký karbon, ale že olej je znečištěn i prachem (auta neměla vzduchové ani olejové filtry) a kovovým otěrem. Dnes víme, že „měkký karbon“ tvoří velmi tvrdé a abrazivní částice sazí, které známe i ze současných naftových motorů. Z dnešních standardních benzinů se žádný karbon již netvoří, malé množství sazí však vzniká i dnes u přímého vstřikování benzínu do válce díky lokální chudé spalovací směsi.

Současná aditivace motorových olejů především detergenty a disperzanty již nedovolí, aby se jakékoliv běžné nečistoty usazovaly kdekoli v motoru.

2.4. Výběr motorového oleje

Výběru motorového oleje byla vždy věnována velká péče. Kvalita olejů byla tehdy závislá na tom, z jaké ropy a jak byl daný olej vyroben. Noční můrou uživatelů automobilů bylo výrazné provozní ředění oleje palivem. A některý olej se s palivem vypořádal lépe než jiný, tj. změny viskozity oleje byly u některých olejů menší.

Stejně to bylo i s nízkoteplotními vlastnostmi olejů. Bylo zcela běžné, že se začínajícími mrazy automobil nebylo možné nastartovat. Nebo se motor musel nastartovat pomocí kliky. Některé motorové oleje odolávaly nízkým teplotám lépe než jiné. Dnes jsou všechny oleje zbavené parafinů a navíc dostatečná tekutost olejů i při velmi nízkých teplotách je zabezpečena pomocí přísad – depresantů.

Motorové oleje byly jednorozsahové, tj. musel se používat jiný olej pro letní a jiný pro zimní období. Tuto

praxi jistě znají i pamětníci 60. let 20. století, kdy byl u nás populární olej M6, později M6A a M6AD. V zimním období se musel použít olej s nižší viskozitou, aby byla zajištěna lepší tekutost oleje při chladném počasí.

2.5. Převodový olej

Převodovky na začátku rozvoje automobilismu nebyly příliš složité ani příliš namáhané. Proto ani teplota převodového oleje nebyla příliš vysoká. Na rozdíl od motorových olejů se převodové oleje používaly stejně v létě i v zimě. Jen pro zimní období bylo běžnou praxí, že se převodový olej naředil vypuštěným motorovým olejem přibližně v poměru 2:1, pokud nebyl příliš znečištěný. Viskozita převodových olejů byla tak vysoká, že se někdy uvažovalo i o použití plastického maziva v převodovce. Důvodem byla tehdejší horší těsnost převodových skříní. Jestliže docházelo k úkapu oleje z převodové skříně nějakou netěsností, mohl se dostat olej na brzděné pásy a účinnost brzd pak byla velmi nízká.

2.6. Servisní péče o automobily

Snem většiny motoristů je, aby mohli jezdit a využívat automobil ke své práci či ve volném čase a o nic jiného se nemuseli starat. Přestože v automobilovém průmyslu byly vyvinuty některé bezúdržbové díly, takového přepychu zatím dosaženo nebylo. Jednou za čas musí každý motorista do servisu na pravidelné prohlídky.

Z dnešního pohledu byla údržba automobilů ve 20. letech velmi nepřijemná. Mnoho starostí dalo tehdy mazání podvozku a kol. Většina mazaných míst vyžadovala domazávání v týdenních intervalech, některá místa však vyžadovala každodenní péči. To vše proto, že plastická maziva ještě neexistovala a olej z mazaných míst rychle mizel. Nakonec i výměna motorového oleje byla doporučována v intervalu 1 týden nebo 500–800 km podle typu provozu. V zimě se doporučovala častější výměna oleje.

2.7. Kvalita motorových olejů

S rychlým vývojem automobilů a motorů se stejně rychle měnily i mazací oleje. Brzy se zjistilo, že používat k mazání ropné produkty bez jakékoliv úpravy je velmi nevhodné a přináší to více problémů než užitku.

Motorové oleje se začaly v rafinériích čistit a rafinovat. Stále to však nebyla taková rafinace, jak ji známe dnes. Před 80–90 lety se spoléhalo na destilaci. Destilované oleje byly barevně světlejší, tvořilo se z nich méně karbonu a byly velmi vyhledávané. Nedestilované oleje již byly pro mazání motorů nevhodné. Poukazovalo se na jejich tmavou hnědozelenou barvu. Barva oleje byla tak velmi významným faktorem pro hodnocení kvality olejů.

Na motorové oleje byly kladeny čtyři základní požadavky:

- olej musel téct při bodu mrazu, tj. při 0 °C, nebo i níže,
- musel při zahřívání tvořit velmi málo karbonu,

- nesměl při provozu gelovatět a vytvářet gumovité úsady,
- musel mít dostatečnou viskozitu, aby mohl odolávat nežádoucímu ředění oleje palivem.

Vyrábět motorové oleje v tehdejší době musela být radost. Žádné viskozitní ani výkonnostní limity, žádné drahé motorové testy. Na druhé straně, oleje od různých výrobců měly také různou kvalitu – záleželo na typu ropy a na způsobu jejího zpracování a rafinace. Dnes je pro spotřebitele situace o mnoho jednodušší. Stejně typy motorových olejů od různých výrobců jsou kvalitou velmi podobné, ne-li úplně stejné.

2.8. Rozbory a hodnocení olejů

Během 20. let 20. století se zvolna zvyšovaly nároky na motorové oleje a bylo nutné kvalitu motorových olejů nějakým způsobem měřit. První testy olejů se samozřejmě zaměřily na parametry a problémy, které trápily tehdejší výrobce automobilů i motoristy.

Hlavním měřítkem pro volbu olejů byla viskozita. Měřila se v sekundách metodou podle Saybolta. Již tehdy byla navržena pro měření viskozity teplota 38 °C a pro hodně viskózní oleje pak 99 °C. Při přechodu na metrickou soustavu se začaly používat teploty 40 a 100 °C. Ty používáme dodnes a jsou základem pro výpočet viskozitního indexu. Alfou a omegou tehdejších olejů byla jejich tekutost při nízkých teplotách, proto byly zimní oleje poměrně málo viskózní. Volba viskozity byla tak významně ovlivňována venkovní teplotou a nízkoteplotními vlastnostmi olejů.

Karbonizační zbytek – tento test byl zaveden do analýzy olejů v době, kdy se zjistilo, že karbon je velkým nepřítelem motorů. Test spočíval v zahřívání vzorku oleje na teplotu 700 °C v nepřítomnosti vzduchu. Karbonizační zbytek olejů býval často vyšší než 1 hm.%. Způsob stanovení karbonizačního zbytku je dodnes naprosto shodný.

V tehdejší době byly také vyvinuty další testy, které se provádějí i dnes, často i stejným postupem. Jedná se zejména o test tekutosti olejů, barevnosti olejů, bod vzplnutí, množství nerozpustných látek, kyselosti oleje apod.

2.9. Síra v palivech a olejích

V roce 1928 byla v odborné literatuře poprvé zmíněna role obsahu síry v palivu. Dnes se na síru díváme jako na prvek, který ve formě oxidů zatěžuje ovzduší. Tehdy však byla síra rozpoznána pouze jako zdroj koroze v motoru.

Příčinou koroze jsou oxidy síry, které spolu s vodou ze spalování paliva tvořily kyseliny. Při výzkumu, jak omezit rozsah koroze, bylo zjištěno, že v teplém motoru probíhala koroze mnohem pomaleji. To souviselo s kondenzací kyselin na studeném povrchu kovu při studených startech, u teplého motoru byla kondenzace na povrchu kovu mnohem menší. To byl také začátek používání termostatů v chladicím okruhu. Přílišné ochlazení motoru při volnoběhu či ochlazení nezatíženého motoru urychlovalo korozi.

Ještě se podívejme na množství síry v palivu koncem dvacátých let. Kvalitní benziny, tj. přímé destiláty ropy, měly poměrně nízký obsah síry, kolem 0,1 %. Rozhodující roli zde hrál také typ ropy, z které byl benzin získán. Čím byl obsah síry v ropě větší, tím byl i vyšší obsah síry v benzínu. Primární benzin měl ale jednu nevýhodu, která vyplývala z nízkého oktanového čísla – motory „klepaly“. Tehdy ovšem o oktanovém čísle nebylo ani ponětí, avšak věděli, že když přidají do benzínu „benzolový destilát“ z uhelného dehtu, klepání motoru se ztiší či utichne úplně. Tyto směsné benziny ale obsahovaly kolem 0,2 až 0,3 % síry a koroze pochopitelně byla o to intenzivnější.

Tehdy se ještě nikdo nezabýval obsahem síry v motorovém oleji, ale již se vědělo, že oxidy síry či kyseliny ve spalínách jsou nebezpečné i pro motorové oleje. Již tehdy byla objevena souvislost mezi pronikáním kyselých spalín do oleje a tvorbou kalů a úsad v oleji. Kaly v oleji byly považovány za velmi nebezpečné, byl to zdroj možného ucpávání olejových cest. Proto se zdůrazňovala nutnost proplachování olejového systému při výměnách olejů a odstraňování všech zbytků kalů a úsad.

3. Třicátá léta 20. století

Charakter odborných článků z této doby je úplně jiný než o pár let dříve. Lze říci, že dvacátá léta byla léta objevování. Motorizace byla ve stavu rychlého vývoje a současně s tím se také zvyšovaly nároky na paliva a maziva. Jak do množství paliva, kterého bylo potřeba stále více a více, tak i do kvality, protože motory si příliš nerozuměly s určitými vlastnostmi paliv a zejména mazacích olejů.

Třicátá léta byla ve znamení konsolidace. Základní konstrukční záležitosti motorů byly objasněny, vedle benzinových motorů se začaly prosazovat i diesellové motory, zejména v oblasti velkých motorů a jejich průmyslového využití. Paliva pro benzinové motory bylo dostatek díky zdárnému vývoji rafinérských procesů. Mazací oleje se již vyráběly pomocí velmi jednoduché rafinace, která byla založena na destilaci a velmi jednoduchém čištění olejů.

3.1. Pokrok v materiálech a konstrukci motorů

V začátcích automobilismu byly motorové písty osazeny pevnými pístními kroužky. Z toho vyplývalo mnoho již uvedených problémů, např. stékání paliva po stěně válce a ředění motorového oleje, karbonové úsady ve válci z přebytku oleje na stěnách válce apod. Zavedení pružných pístních kroužků ve 30. letech 20. století a jejich volný pohyb v pístních drážkách mnohé změnilo. Především se zvýšil kompresní tlak a kompresní poměr a bylo možné z motoru dostat větší výkon. To bylo podporováno také zahájením výroby pístů z lehkého hliníku, který umožnil zvýšit počet otáček motoru.

Dalším novým konstrukčním prvkem se stala slitina mědi a olova, pomocí níž byla konstruována ložiska. Nové materiály v ložiskách umožnily snášet vyšší zatížení loži-

sek i jejich větší teplotní zatížení. Velkou nevýhodou nových ložisek byla jejich snadná koroze. Zejména olovo snadno korodovalo, ze slitiny se rozpouštělo a měď zůstávala porézní a křehká.

Tento pokrok v nových materiálech a novém konstrukčním řešení motoru si vyžádal zásadní změny v kvalitě motorových olejů. Především se vyžadovaly oleje co nejlépe rafinované a s nízkou tvorbou karbonu, aby pružné pístní kroužky zůstaly čisté a volné. Později to vedlo k návrhu a zprovoznění prvních extrakčních technologií pro rafinaci olejů. Musel se řešit i problém s rostoucí teplotou v motoru. Ta způsobila urychlení oxidace motorového oleje a rozpouštění olova v ložiskových slitinách. I na to se našel lék v antioxidantech.

3.2. Viskozitní třídy olejů

Kvalita tehdejších motorových olejů byla velmi závislá na typu ropy a na výrobcí. Dnes to již dávno není pravda, přesto jsou takové myšlenky v povědomí dnešních uživatelů olejů dodnes zakořeněné. Oleje byly od r. 1911 vyráběny ve třech viskozitách: lehké, střední a těžké. Tyto viskozitní typy olejů nebyly nijak definovány a výrobci si je vykládali každý jinak.

Ve třicátých letech byla již tato situace neúnosná. Proto v lednu 1938 americká Společnost automobilových konstruktérů (SAE) vydala první viskozitní klasifikaci motorových i převodových olejů. Pro motorové oleje byly navrženy viskozitní třídy téměř ve stejné podobě, jako je známe dnes. Samozřejmě, že se tehdy jednalo pouze o specifikace tzv. letních viskozitních tříd, tedy o oleje monográdové. Zimní třídy SAE byly do klasifikace SAE doplněny později.

Používání volně pohyblivých pístních kroužků a lepší těsnost spalovacího prostoru umožnily používání méně viskózních olejů. Tehdy se většinou používaly motorové oleje SAE 30, v zimním období i oleje SAE 20 kvůli lepšímu startování. Používání lehčích olejů se nedoporučovalo pro stále ještě znatelné ředění oleje palivem. Používání těžších a viskóznějších olejů (SAE 50 a SAE 60) pak bylo nevhodné z hlediska tvorby karbonových úsad a vážnutí pístních kroužků v pístních drážkách.

V této souvislosti je zajímavé ještě připomenout jednu věc. S vydáním nové viskozitní klasifikace motorových olejů bylo již tehdy důrazně připomínáno, že viskozitní třídy nemají nic společného s kvalitou olejů. Přesto je dnes viskozitní označení pro některé uživatele často jedinou známkou kvality motorových olejů. Sedmdesát let se již opakovaně zdůrazňuje, že viskozita s kvalitou oleje nijak nesouvisí a stále je to málo.

3.3. Dieselové motory

Prosazení dieselových motorů v osobních i nákladních automobilech bylo umožněno až v 30. letech. Impulsem byly již zmíněné pružné pístní kroužky, které umožnily snáze dosáhnout kompresního tlaku nutného pro zapálené palivové směsi.

Dieselové motory ale měly jeden zvláštní požadavek

na motorové oleje. Problematická byla tvorba sazí při spalování diesellového paliva. S tímto problémem zápasí motorové oleje dodnes. Dnes se problém sazí řeší zvýšenou aditivací olejů detergenty. Tehdy se ale žádná aditivace olejů ještě neprováděla a tvorba kalů a úsad v motorovém oleji byl největší problém olejů v diesellových motorech. Až koncem 30. let byly vyvinuty a začaly být také používány i detergenty v motorových olejích pro velkoobjemové diesellové motory. Běžnou součástí všech motorových olejů se ale detergenty staly až mnohem později, přibližně v druhé polovině 60. let.

4. 2. světová válka a poválečná léta

Válečná léta měla na kvalitu paliv a maziv podstatný vliv. Hlavní vývoj se odehrál především ve vojenské oblasti. V civilním sektoru se naopak kvalita paliv a maziv zhoršila a vrátila na úroveň o několik let zpět. To se týkalo především benzinů, jejichž nedostatkové vysokooktanové složky musely být používány do leteckých benzinů. Přesto ve výzkumných laboratořích vznikly objevy, jejichž plně uplatnění přišlo až po 2. světové válce.

4.1. Benzin

Do vývoje kvality benzinu významně zasáhlo masové rozšíření pístních kroužků. Zvýšil se kompresní tlak ve válci, zvýšil se výkon motoru, ale na druhé straně nastal problém s klepáním motoru. To všechno vedlo k nutnosti charakterizovat kvalitu spalování benzinu. Z tohoto důvodu bylo zavedeno hodnocení benzinů pomocí oktanového čísla. Jeho definice platí dodnes.

Během 30. let se začala také používat přísada do benzinu ke zvýšení oktanového čísla – tetraethylolovo. Tím se významně zlepšily antidetonační vlastnosti tehdejších benzinů. Během 2. světové války však začala být nouze o kvalitní benzin v souvislosti se zvýšenou potřebou 100 oktanového leteckého benzinu. Během války tak automobilový benzin zaznamenal návrat k dřívější horší kvalitě a nižšímu oktanovému číslu. Konkrétní data o oktanových hodnotách benzinů je však velmi obtížné nalézt. Do r. 1930 měly benziny mezi 40–60 oktany, díky tetraethylolovu se po 2. světové válce do r. 1950 vyšplhalo u prémiových benzinů oktanové číslo až na hodnotu 80 oktánů. V r. 1960 už měly nejkvalitnější benziny dnešních 95 oktánů. Samozřejmě, že standardní benziny byly s hladinou oktanového čísla o něco níže.

Kvalita dnešních benzinů je již hodně vysoká i vzhledem k dalším parametrům, především obsah síry je velmi nízký. Benziny s oktanovým číslem 100 již také lze natankovat u některých čerpacích stanic a existují i benziny s oktanovým číslem 102, které se používají do velmi výkonných soutěžních motorů.

4.2. Základové mazací oleje

Pístní kroužky byly v automobilismu pravděpodobně objevem desetiletí, protože kromě kvality benzinu ovlivni-

ly i kvalitu motorového oleje. Bylo nutné zajistit, aby motorový olej tvořil co nejméně karbonových pryskyřic a tvrdých nánosů, které by způsobily vážnutí pístních kroužků v drážkách. Byly urychleny výzkumné práce na rafinaci olejů a koncem 30. let, těsně před 2. světovou válkou, byly zprovozněny první technologické jednotky pro rafinaci mazacích olejů pomocí selektivních extrakčních rozpouštědel. Vývoj a výroba mnohem kvalitnějších olejů byly urychleny mimo jiné i díky vojenským požadavkům. V poválečném období pak už byla rafinace základových olejů pomocí rozpouštědel běžnou záležitostí.

Jednalo se už o první skutečnou rafinaci olejů tak, jak ji známe dnes. Jako extrakční rozpouštědla byla navržena: oxid siřičitý, fenol, chlorex a furfural. Z nich se dodnes udržel pouze furfural, ostatní rozpouštědla byla překonána nebo nevyhovují z hygienických důvodů. Tímto typem rafinace se v dnešní době vyrobí více než 60 % světové produkce olejů.

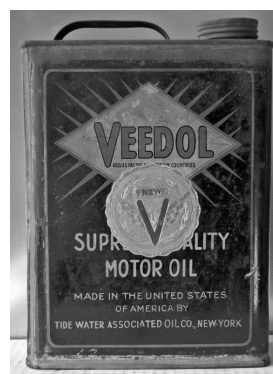
Kromě vlastní rafinace olejů se začalo také technologicky provádět odparafinování olejů, tj. zbavování mazacích olejů parafinů, které způsobovaly zatuhnutí olejů při nízkých teplotách. Způsob, kterým se začalo provádět odparafinování olejů se praktikuje dodnes – olej se rozpustí ve směsi dvou rozpouštědel, roztok se podchladí na velmi nízké teploty a vyloučený parafin se odfiltruje. Tato technologická operace podstatně zlepšila nízkoteplotní vlastnosti mazacích olejů. Od té doby bylo startování motorů i za nízkých teplot méně problematické.

Jako rafinačního činidla byla již dříve využívána také kyselina sírová. Ta je velmi účinným prostředkem k rafinaci olejů a využívá se ještě i dnes pro výrobu velmi kvalitních bílých olejů (např. medicínalní oleje). Při kyselinové rafinaci však vznikají velmi nepříjemné kyselé odpady. Ve 30. letech s takovými odpady nebyl nijak velký problém, dnes je to však již velmi problematická technologie. U nás byla kyselinová rafinace provozována v rafinérii Ostrava k rafinaci upotřebovaných olejů až do r. 1997, kdy provoz zničila povodeň.

4.3. Motorové oleje a aditiva

Kromě zásadního vylepšení základových olejů byly koncem 30. let 20. století a zejména během 2. světové války vyvinuty také první přísady do olejů. Jednou z prvních přísad byly antioxidanty, které řešily problém koroze a křehnutí ložiskové slitiny mědi s olovem. Antioxidanty významně zpomalovaly oxidaci motorových olejů. V olejích se pak netvořily kyselé oxidační produkty a olej nevymýval olovo z ložiskové slitiny mědi a olova. To přispělo k zásadnímu prodloužení životnosti ložisek.

Další přísadou byly detergenty nutné pro eliminaci úsad sazí v olejích, zejména v dieslových motorech, ale také pro udržování čistoty pístních kroužků a spalovacího prostoru benzinových motorů. Byly objeveny také první mazivostní přísady. Již tehdy byly známé chlorované parafiny, vynikající mazivostní sloučeniny, které se ale při vysokých teplotách rozkládají a podporují korozi motoru. Dnes se od nich upouští už i v obráběcích a řezných ole-

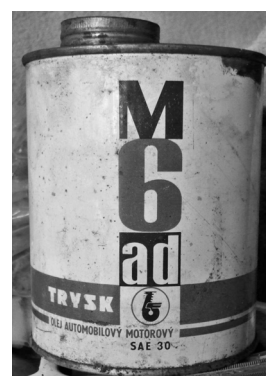


Obr. 1. Motorový olej 30. a 40. let 20. století

jích kvůli velmi špatné biologické odbouratelnosti a obtížné likvidaci použitých olejů. Bohužel však pořád straší v některých populárních přísadách do motorových olejů, které lze dnes koupit v maloobchodě.

Je vidět, že již těsně před 2. světovou válkou a během ní byly nalezeny a vyvinuty nejdůležitější typy přísad, které se v motorových olejích používají dodnes. Samozřejmě, že používání přísad v olejích bylo velmi závislé na výrobci. Jejich používání bylo zpočátku ještě velmi omezené. Postupně se zavádělo použití antioxidantů v olejích pro benzinové motory a antioxidantů a detergentů pro oleje v dieslových motorech. Teprve v druhé polovině 60. let a během 70. let 20. století se aditivace motorových olejů stala běžnou záležitostí, včetně používání polymerních zlepšovačů viskozitního indexu a vývoje multigrádových motorových olejů.

Na obr. 1 je fotografie historického motorového oleje, který byl vyráběn v 30. a 40. letech 20. století v USA společností Tide Water a přes německou filiálku byl distribuován i v Evropě. Jednalo se ještě o čistý minerální olej bez aditivace. Na dalších fotografiích na obr. 2 a obr. 3 jsou motorové oleje ze 60. až 70. let, které pocházely z československých rafinérií. Ty již byly aditivované antioxidanty a detergenty (Trysk M6 AD, obr. 2) a také modifikátory viskozity (Madit Super, obr. 3).



Obr. 2. Jednorozsahový motorový olej M6 AD se začal vyrábět již v 60. letech 20. století v kolínské rafinérii



Obr. 3. Multigrádový olej M7 AD ze 70. let 20. století z bratislavského Slovnaftu

4.4. Plastická maziva

Plastická maziva jsou v podstatě mazací oleje s velmi vysokou viskozitou. Vyvinuta byla proto, aby bylo zajištěno dlouhodobé mazání těžko přístupných míst, většinou ložisek a kloubových spojení, z kterých by tekutý olej vytekl. Tímto způsobem se také výrazně prodloužily servisní intervaly, v nichž musel být takový mazací uzel domazáván. Mělo to ale jednu nevýhodu. V mazacím tuku se hromadily nečistoty a prach, které způsobovaly abrazi třecích ploch a jejich rychlé opotřebení.

Koncem 30. letech 20. století byly všechny tyto problémy vyřešeny. Ložiska byla uzavřena do těsných pouzder a pouzdra byla naplněna mazacím tukem. V takto zaoptimovaném ložisku pak bylo dlouhodobě zajištěno kvalitní mazání.

4.5. Syntetické oleje

Počátky vývoje syntetických olejů lze datovat na přelomu 30. a 40. let 20. století, kdy firma IG Farben začala testovat několik stovek různých esterů a zkoušela jejich chování v motorech. Vývoj syntetických olejů se pak výrazně urychlil během 2. světové války. První syntetický polyglykolový olej byl provozně vyzkoušen během 2. světové války v leteckém motoru.

V polovině 60. let se začal komerčně vyrábět první polyalfaolefinový olej (PAO), který byl plně mísitelný s ropným olejem a mohl jej nahradit. Na konci 60. let a začátkem 70. let se začaly syntetické oleje prosazovat i v automobilovém průmyslu. Prosazovaly se zejména esterové oleje a PAO. Zpočátku jako částečně syntetické oleje ve směsi s ropnými oleji, později i jako plně syntetické motorové oleje. Takové oleje měly výrazně lepší výkonnost než tehdejší standardní ropné oleje a nedoporučovalo se proto míchat ropné a syntetické oleje.

Od konce 60. let 20. století se mazací oleje začaly průmyslově vyrábět také hydrogenačně. Tyto oleje byly kvalitnější než běžně rafinované oleje. Jejich popularita začala prudce růst až v 90. letech, kdy byla vyvinuta technologie, pomocí níž se začaly vyrábět a obchodovat velmi kvalitní hydrokrakové oleje².

4.6. Standardizace kvality motorových olejů

Nároky motorů na motorové oleje v poválečné době již vzrostly natolik, že bylo nanejvýš účelné zavést určitý řád, který by zohledňoval kvalitu motorových olejů. První klasifikace motorových olejů vznikla z iniciativy American Petroleum Institute (API).

Klasifikace API

Až do roku 1947 byly motorové oleje rozdělovány pouze na základě viskozity. První jednoduché viskozitní dělení olejů bylo navrženo v roce 1911 a od r. 1938 byly motorové oleje rozdělovány do stejných viskozitních tříd tak, jak je obvyklé i dnes. Kvalita motorových olejů však byla velmi závislá na původu ropy, na výrobci a na hloubce rafinace oleje. Motorové oleje se používaly bez přísad, až v době 2. světové války se zejména u diesellových motorů začaly používat první detergentní a antioxidační přísady.

V roce 1947 navrhla organizace API první výkonnostní rozdělení motorových olejů³. Byly zavedeny tři výkonnostní třídy motorových olejů:

- regular – ropné oleje bez přísad, pouze rafinované extrakčním způsobem,
- premium – extrakčně rafinované oleje vybavené antioxidanty,
- heavy-duty – motorové oleje pro diesellové motory aditivované antioxidanty a detergenty.

Tento systém klasifikace motorových olejů byl postupně v letech 1952, 1955 a 1960 upravován a byly zavedeny kategorie, které zohledňovaly náročnost provozu automobilu.

V letech 1969 a 1970 vznikla v USA úplně nová klasifikace motorových olejů API tak, jak ji známe dnes. Pro oleje benzinových a velkých diesellových motorů byly navrženy vždy čtyři třídy výkonnosti motorových olejů:

- SA, SB, SC a SD – pro benzinové motory, kde třída SA znamenala oleje bez přísad a oleje SD představovaly tehdejší špičku v kvalitě motorových olejů,
- CA, CB, CC a CD – pro velkoobjemové diesellové motory, charakteristika jednotlivých tříd byla obdobná jako u olejů pro benzinové motory.

Systém klasifikace API zůstal zachován dodnes, pochopitelně však nároky na oleje jsou dnes mnohem vyšší a tomu odpovídají i současné specifikace, nyní API SM a API CJ-4. Dodnes však v klasifikaci API nejsou podchyceny motorové oleje pro malé diesellové motory osobních automobilů.

Evropské klasifikace

Protože nová klasifikace API neodpovídala evropským požadavkům na motorové oleje, byla v r. 1972 zveřejněna klasifikace, kterou sestavilo Sdružení konstruktérů automobilů – CCMC. Byly navrženy dvě kategorie motorových olejů – pro benzinové a velké naftové motory. Na rozdíl od klasifikace API však byla zavedena i kategorie

motorových olejů pro vznětové motory osobních automobilů.

Klasifikace CCMC fungovala až do r. 1996, kdy byla nahrazena klasifikací ACEA, která je platná dodnes⁴. V klasifikaci ACEA byly zachovány kategorie motorových olejů pro benzinové a dieselové motory osobních automobilů a malých dodávek a pro velkoobjemové dieselové motory. V r. 2004 byla klasifikace doplněna i o kategorii motorových olejů slučitelných s novými zařízeními pro úpravu výfukových plynů. Výkonnostní požadavky na jednotlivé třídy klasifikace ACEA jsou přibližně každé dva roky inovovány a jsou stále přísnější.

5. Závěr

Automobily, motory a také paliva a maziva prošly dlouhým vývojem. Stejně jako při realizaci všech převratných myšlenek, také v rozvoji automobilismu můžeme rozeznat období pionýrů a nadšenců, které postupně vystřídá období relativního klidu, během něhož se vývoj přesouvá na specializovaná výzkumná pracoviště. Další fáze je již věnovaná systematickému výzkumu, který však musí být velmi těsně spojen se strojírenskou praxí. Toto období právě prožíváme a mnohdy si ani nevzpomeneme na těžké, ale také entuziastické objevování našich předků.

Práce byla podpořena MŠMT ČR v rámci projektu č. MSM 604 613 7304.

LITERATURA

1. Magazin Lubrication, archiv z let 1920 až 1950. Texas Company, New York.
2. www.lubricantuniversity.com (2006).
3. Václavíčková I., Černý J.: 9. konference "Tribotechnika v teorii a praxi", Orlik, 22.-23. října 2002. Sborník přednášek (bez editora), str. 65.
4. *Engine Oil Licensing and Certification System*, API 1509, 16. vydání, April 2007, Addendum 1, March 2008.
5. *ACEA European Oil Sequence 2008*. ACEA, Brusel, prosinec 2008.

J. Černý (*Department of Petroleum Technology and Alternative Fuels, Institute of Chemical Technology, Prague*): **Fuels and Motor Oils at the Early Stages of Automotive Industry**

The article reviews the development of fuel and motor oil quality at the early stages of automotive industry. Main attention is devoted to the 1920–1950 period. Basic aspects of engine development are also discussed as the engine construction is closely related to oil quality.

ČLOVĚK A VĚDA

JAROSLAV ŠESTÁK*

Fyzikální ústav Akademie věd ČR, v.v.i., Praha, Výzkumné centrum nových technologií, ZČU, Plzeň, University of New York v Praze

Dar poznávání je bezesporu nejvýznamnější schopností člověka a úroveň poznání patří mezi nejdůležitější měřítko úrovně civilizace¹⁻⁷. S procesem hledání je nutně spojená i lidská zvědavost, trpělivost při vytváření vlastních úsudků a konečně i pokora před podivuhodnou přírodou, která je při vši své různorodosti ve skutečnosti jednotná, jak nakonec zjišťujeme ze vzájemné propojenosti pozorovaných jevů². Pračlověk musel nejprve přivyknout a posléze se dobrat k pochopení účinků zemské přitažlivosti, která ovlivňovala jak polohu jeho samotného, tak pohyby předmětů. Trvalo však staletí, než lidé správně pochopili, co to je gravitace a jak je úzce propojena s pohybem a dokonce i s celou geometrií prostoru a času. Následně se pračlověk musel naučit spolupracovat s ohněm, který se na rozdíl od gravitace vyskytoval jen náhodně, a produkované teplo mělo tendenci stoupat vzhůru, čímž se nápadně lišilo od obvyklého pohybu předmětů. Postupné zvládnutí ohně člověkem³ zahájilo etapu jeho odlučování od zvířat, které započalo nutností udržení ohně pro potřeby tepla (nezbytné k přežití), obrany, využití k přípravě pokrmů a které se nakonec rozvinulo do vysoké úrovně během novodobého důmyslného využití ohně pro pohon energetických strojů. Tím se z ohně stal pracovní nástroj a později se začal užívat i jako specifické analytické činidlo schopné analyzovat svoje vlastní efekty³.

Ve vztahu k člověku byl široce uctíván oheň na jedné straně nesmírně užitečný a ochraňovaný jako dárce tepla a světla a na druhé straně i velmi nebezpečný a obávaný jakožto ničitel svého okolí⁴. Pro tuto výjimečnou součinnost s životem člověka byl oheň člověkem přirozeně vnímán jako jeden ze základních „stavebních kamenů světa“, v historických pramenech nejčastěji označovaných jako soubor základních čtyř živlů: země, voda, vzduch, oheň. Moderní přírodověda později přešla od pojmu živlů k pojmu stav¹ a definovala tři stavy – pevná látka, kapalina a plyn, u kterých si můžeme představit možnou sociologickou strukturou, počínajíc od pevné autokracie (hierarchie), přes jistou analogii pohyblivější kapaliny s demokracií, až ke zcela uvolněnému stavu plynné anarchie. Dále inovovala pojem formy, který sjednocoval živly do jakési skutečné tvárnosti, ve tvaru in-form-ace^{1,3}, v moderním světě ctěné znalosti (neboli oblíbené „know-how“).

Zkoumání vlastností ohně bylo velmi problematické, protože oheň byl spojován s mnoha mýty a nešly mu přisoudit nějaké jednoznačné objektivní atributy kvantitativních živlů⁴, neboť se vždy současně s ním projevovaly i další doprovodné efekty kvalitativního charakteru, jako je sucho, vlhko, chlad a teplo, vše vzájemně svázané do určitého tvaru, právě do výsledné formy. Dobře zvládnout problematiku ohně znamenalo postupovat mimoděk způsobem, který dodnes charakterizuje „korektně“ prováděnou vědeckou práci, kde však moderní výzkum vyžaduje určitou „desakralizaci“ pohledu na svět (protože co je předmětem úcty, se nezkoumá – stejně jako teologie nemůže reflektovat samotný předmět svého zkoumání). Schopnost takového hodnotového poznávání dnes reprezentuje oblast vědy, kterou nikdo cílevědomě nevyalezl, ale která je stále vynalézána a která se vyvinula a zdokonalovala v průběhu věků⁵⁻⁷ (i když musíme připustit i stěžejní roli některých osobností, mimo jiné, např. Francis Bacon, René Descartés nebo Gottfried Leibnitz). Řada filozofů i politiků se snaží najít vysvětlení podstaty vědy a jejího fungování v rámci obecné platnosti, které by bylo aplikovatelné v jakémkoliv myslitelném světě. Nic takového však zřejmě neexistuje. Je zde jen touha po poznání, tj. snaha po vyšším kulturním růstu (jako souboru duchovních i hmotných statků vytvořených člověkem), analogicky kterékoli primární lidské činnosti. Názorný příklad tvoří prvovýrobci, kteří vytvářejí hodnoty (kam patří jak věda, tak vzdělávání), tj. činnost, která sama o sobě zabezpečuje funkci vědy, a která může být zpochybněna jen materiálními požadavky těch, kteří vědu bezděčně používají, ale nerespektují či považují ji za nepotřebnou (např. přesun výrobků, sekundární činnost obchodu).

K tomu, aby badatel mohl určit lepší strategii⁶, musí nejprve o zkoumaném problému něco vědět, musí ke světu poslání nejprve dorůst. Úspěšné strategie byly zhusta už objeveny a účinně aplikovány. Byly vždy založeny na stabilitě přírodních dějů, tj. neměnnosti krajiny a na účelnosti vědeckého bádání hledajícího pravidelnost přírodních vztahů a procesů, a na naší schopnosti jejich modelování pomocí nástrojů, které máme k dispozici. Vědec jen nesmí ztratit jak odvalu bádání, tak svoji představitost a své okouzlení přírodou, ať se jedná o klasiku, který rozvíjí stávající názory či rebela, který nastoluje názory nové, často rozporné – právě jejich koexistence je zárukou pokroku. Obě byt' protichůdné kategorie badatelů se nesmějí nechat odradit jen materiálními potřebami společnosti, která stále více lne k přepychu – od svého poslání odhalovat moudrost a krásu přírody. Věda se zdá demokratická, i když tam neplatí většinové hlasovací právo. Právě osobní

* Obsah slavnostního proslovu (předneseného u příležitosti udělení čestného titulu „doctor honoris causa“ Univerzitou Pardubice, dne 18. ledna 2010) upravila a zkrátila po dohodě s autorem Petra Šulcová.

názor zde musí být respektován, protože může sehrát rozhodující roli v rozvoji existujících ideálů, mravních postojů a zatím neobjevených teorií, který často stojí nad právem většiny⁶. Touha porozumět je sice opodstatněná, nicméně historicky i sociálně omezená, protože je podmíněná určitým ekonomickým „diskursem“. Vědecké objevy nemůžeme předjímat, protože pak by to už nebyly objevy, a ani je nemůžeme dopředu naplánovat nebo dokonce nadiktovat tak, aby byly ihned prakticky použitelné. Můžeme jen věřit, že věda a lidstvo tyto znalosti ve svém vývoji jednou účelně upotřebí. Věda je svébytnou součástí kultury společnosti, je výdobytkem vzdělanosti a můžeme si připomenout, že již Louis Pasteur kdysi zdůraznil: „neexistuje žádná aplikovaná věda, ale pouze aplikace vědy jako takové.“

Ideálním příkladem výše řečeného je nauka o teple, která má mimořádně bohatou a dlouhou minulost^{1,3,7,8}. Teplu bylo jedním z prvních objektů badatelského zkoumání. Pro nás je mimořádně zajímavé, že v nauce o teple hraje významnou roli i učitel národů českého původu, Jan Ámos Komenský. Ve své málo známé knize⁷ se snažil představit různé stupně tepla a zimy a je pravděpodobné, že Komenský zavedl i termín kalorik (český termín teplík se zatím neujal), jehož použití zobecnili o 100 let později Skot Joseph Black a Francouz Antoine Lavoisier. Kaloriku se přisuzovala role jakési neodhadnutelné složky zvláštních vlastností, která prostupuje a obaluje veškerý svět částic, což bylo nezbytné pro vysvětlení kompenzace vše pronikající gravitace nutné pro vysvětlení představy fyzické segregace jednotlivých částic. V roce 1824 Francouz Sadi Carnot použil pro popis kalorika princip potenciálu analogického proudu vody tekoucí z vyšší hladiny do nižší⁹ a dal tak základ pro charakterizaci parního stroje, kde tepelný pohyb molekul je definován na makroskopické úrovni pohybem pístu ve válci. Skutkově zde došlo k ideovému propojení starověkých živlů ohně, vody a vzduchu, spolu se čtvrtým (organizovaným) živlem zemí, v celistvý a účelový mechanismus, pod sjednocujícím konceptem informace³. Maximální účinnost takového tepelného stroje je úměrná jen rozdílu pracovních teplot bez ohledu na použité médium (obvykle vody) a za dosažení jeho maximální účinnosti zaplatíme extrémní pomalostí (tzv. reverzibilitou), která v běžném životě je nedostupným přepychem, protože musíme spěchat a tak za zkrácený čas a zvýšenou rychlost pykáme sníženou účinností, protože ve světě přírody nic není zadarmo. Navíc nepomůže nám jen úprava provozních podmínek, ale musíme vynaložit chytrost, tj. opět informaci, nezbytnou při vylepšování konstrukce stroje, který fakticky pracuje jako informační transduktor³ (který, kromě svého opotřebení, se v průběhu pracovního procesu přeměny skutkově nemění). Funkci tepelného stroje lze zdůvodnit různou hodnotou či kvalitou tepla vztáženou k okamžité pracovní teplotě. Užitečnou práci tak můžeme získat jen tehdy, když pracujeme při dvou různých hodnotách tepla spolu s dvojitou vnitřní uspořádaností pracovního systému. Můžeme si představit, že teplota vyjadřuje jakousi toleranci systému vzhledem k jeho neuspořádanosti (chaosu), což nám umožňuje uplatnění, nebo lépe zpodobnění této zákonitosti i do oblastí společenských věd, kde ale stav společnosti není determinován standardním minimem

energie (jako ve fyzice), ale naopak pocitem maximální spokojenosti^{1,3}. V rámci aplikace tradičního modelu tepelného stroje (např. Carnotova čtyřdobého cyklu spalovacího motoru) na výměnný obchod, pak tepelné sekvence musí být analogicky uskutečněny v různých podmínkách tolerance a bohatství (uspořádání) – nejčastěji existujících v rozdílných nestejně rozvinutých zemích, aby takto zvolený ekonomický cyklus mohl ve svém průběhu vytvořit plochu práce, zisku či jiných hledaných hodnot.

Velká část struktury jak společenského, tak fyzikálního světa vzniká z jisté potřeby přírody narušovat symetrii jak v prostoru, tak v čase⁶. Skutkově se tak mění nestabilní volnost „potenciality“ ve stabilní stav uskutečněné „reality“. Na druhé straně často simultánní vznik organizované asymetrie (včetně tzv. samouspořádání^{3,10}) je nezbytný pro zrod komplexních molekul života (i když otázka, proč k tak energeticky náročným přeměnám vůbec došlo, je stále nevyřešená). Navenek zjevně spojitá hmota a spojitá energie se v detailní analýze sestává z elementárních částic a kvant. Zjevně prázdné vakuum obsahuje různá silová pole zkombinované z mnoha proměnných, kde si zjednodušeně můžeme představit, že porušením jejich symetrie vznikne určitá forma (objekt) a po jejím zániku se opět vrací energie této asymetrie (formy) zpět do symetrie vakuu¹¹. I zde platí Heisenbergův princip neurčitosti: určíme-li přesněji jednu veličinu, začnou nám nekontrolovaně fluktuovat ostatní. To zřejmě platí i pro teplotu a tepelný tok, kdy například při velkých teplotních gradientech nejsme schopni stanovit přesnou hodnotu teploty a naopak.

Ve světě přírody dochází k významnému soupeření mezi nadvládou energie povrchu (úměrný kvadrátu poloměru r^2) a objemu (úměrný r^3). Z obecné analýzy více-rozměrových systémů se nám jeví nejstabilnější jen ten (nejjednodušší) prostor, který vykazuje tři prostorové dimenze a jednu časovou, a ve kterém jsme (my lidé) schopni uvázat jednoduchý funkční uzel. Tento duel mezi dvojrozměrným povrchem a třírozměrným objemem je z technické praxe známý jako Oswaldovo zrání, které podporuje nárůst velkých částic (zmenšením poměru povrchu k objemu) na úkor malých částic; jinými slovy se bohatší částice stávají ještě bohatšími. V okamžiku rovnováhy, kdy bohatí nepřispívají (ani nepřispívali) a chudí už nemají z čeho dávat, kdy se už hranice nemění, soustava zamrzá a ztrácí nezbytnou dynamiku, jak se ukazuje i u velkých státních ekonomik v okamžiku zastavení svého růstu. Jediná pomoc může přijít z vnějšku pomocí tzv. přesycení roztoku, neboli jakýmsi finančním dotováním systému, kterým se právě podpoří existence těch menších.

V přírodě se často setkáváme s pojmem tolerance, která má specifický charakter zejména u elementárních částic, kde elektrony, jako zástupci fermionů, jsou netolerantní a na své úrovni či hladině nesnesou konkurenci a zůstávají tam jen jako jedinci, zatímco bosony (neutrony) jsou tolerantní a snesou se i ve společnosti ostatních. Naskytá se otázka, jak je to s bohatstvím a tolerancí u lidí? Nejlepší přiblížení nám poskytne nalezení paralely mezi termodynamickým chováním systému mikroskopických částic ve srovnání se sociologickým chováním skupiny lidí, kteří nám

z dostatečné vzdálenosti mohou připomínat analogický soubor částic. Už v roce 1993 lze nalézt v dobře statisticky sestavené práci Mimkese¹² odkazy na regulární model termodynamického roztoku úspěšně aplikovaného k popisu sňatku partnerů (= prvků) v různých společnostech (= směsi), jako např. cizinci a přistěhovalci, či věřící a ateisté. Pozorované strukturální analogie vykazují obecnou působnost, která umožňuje uplatnění zákonů nauky o teple (termodynamiky) do společenských věd, kde je ale stav společnosti determinován pocitem maximálního štěstí či zdraví, stavem tolerance a kde teplo je zastoupeno pojmem sociologické seberealizace anebo ekonomickým kapitálem (financemi)^{3,12,13}. Dále lze propojit kohezni (soudržnou) energii s tradicí anebo ziskem, vazebnou energii s náklonností anebo investicemi, odpuzující energii s nedůvěrou anebo výdajem a nakonec můžeme zastoupit nevšímavost (indiferenci) apatií nebo stagnací. Výše uvedené vztahy mohou být podrobněji popsány z hlediska extrémních hodnot interakcí, v kladném přesahu dosahující autokracie, zatímco pro záporné hodnoty je důsledkem agresivní hierarchická společnost jako analogie uspořádané pevné látky (krystalu). Při modelování klasického fázového diagramu solid-kapalina-plyn, můžeme tak definovat obdobné stavy společností, tj. hierarchie-demokracie-anarchie^{3,12}.

Obdobné úvahy zahrnují širší analogie týkající se třeba politického tlaku P , kde související objem V pak vystupuje jako svoboda. Jejich součin (tradiční Boyleův zákon) může být interpretován tak, že pro vyšší politický tlak je nižší svoboda a naopak. Propojením tlaku s tlakem politických vztahů, se pak teplota může charakterizovat měřítkem rozsahu vnitřního řízení, tj. teplejší mezinárodní vztahy nižší počet možných kolizí. Jestliže dva sousední státy, které se rozvíjejí rozdílnou rychlostí, vzájemně komunikují, pak ten rychleji se rozvíjející urychluje pomalejší a naopak, přátelštější mezinárodní řízení pak způsobí menší počet kolizí. Tato úvaha jistě nezahrnuje všechny možné komplikace, kdy můžeme zahrnout další okrajové podmínky, jako je např. transportní vlastnost známou ve fyzice jako viskozita. Tu lze připodobnit v mezinárodních vztazích k váhání a stává se funkcí hustoty obyvatelstva, rychlosti pokroku (tj. přenosu informací), vzdálenosti možných kolizních center, atd.

Možná nerovnováha způsobená zpožděním při přenosu (transportní ekonomické obtíže) vede k tomu, že bohatí se stávají stále bohatšími (srovnej Oswaldovo zrání částic), ale na druhé straně může vést i k vytváření nových pracovních míst či k podpoře malovýroby a může i směřovat k jistému stavu žádoucího „vyrovnávání“. Otázkou zůstává ale definice zisku a ztrát nejen z ekonomického hlediska, protože tato situace má i lidský rozměr (obecný prospěch). Zisk jako prosté hromadění majetku může znamenat stagnaci, kdy už nevznikají nové výtvořky, myšlenky ani nápady a zbohatlá vrstva (lidí) má zájem jen sama na sobě. Civilizace se opět dostává k otázce prostého přežití a to i v období nepoměrného zbohatnutí, což může iniciovat krizi hodnot stejně jako odpovědnosti. Podcenění úlohy poznání a současná degradace hodnot tak směřuje k ekonomickému zlomu obvykle způsobenému sobeckými a zkompromitovanými strukturami a nikoliv jedinci zodpovědnými za prvovýrobu.

Naše zákony platí (nebo by alespoň měly platit) pro všechny lidi bez rozdílu. Můžeme to chápat jako druh symetrie – vlastnost velice žádanou v moderní fyzice, kdy záměna jedné částice stejného druhu za jinou nevede k pozorovatelné změně. Tato symetrie aplikovaná na svět lidí nezaručuje, že životní podmínky všech lidí (ačkoliv třeba platí stejné daně) jsou stejné, protože někdo je chudší a jiný bohatší. Navíc „ideální“ lidé neexistují, protože nemají stejné (vrozené a vzdělávací) vlastnosti a narodili se do různých prostředí, jejich vývoj je ovlivněn velikou řadou životních rozhodnutí, a tak případná počáteční symetrie je spontánně narušena.

Je podivuhodné, že příroda v teorii částicové fyziky je spíše hierarchická než demokratická (i když se může zdát, že to může být právě důsledek toho, že jsme vesmír špatně pochopili). Musíme si také uvědomit, že existují obrovské rozdíly v numerických hodnotách konstant, interakcí nebo hmotností a že existují tři základní konstanty vesmíru právě takové, jaké jsou, které umožňují existenci života. Ale takový je svět přírody a člověk je jeho součástí i produktem, který sdílí řadu přírodních atributů. Je právě na vědě, aby zůstala věrná svému hodnotovému poznávání a odhalování nových aspektů přírody.

LITERATURA

- Šesták J., v knize: „*Metaphores and Models* (Knut E., Pliska V., Folkers G., ed.), str. 87. Collegium Helveticum, Zurich 2007.
- Penrose R.: *The Road to Reality: a Complete Guide to the Laws of the Universe*. Vintage, London 2004.
- Šesták J.: *Heat, Thermal Analysis and Society*, Nucleus, Hradec Králové 2004 a *Science of Heat and Thermophysical Study: a Generalized Approach to Thermal Analysis*, Elsevier, Amsterdam 2005.
- Neubauer Z., Škrdl T.: *Skrytá pravda země*. Mladá Fronta, Praha 2004.
- Green B. R.: *Fabric of Cosmos, Space, Time and the Texture of Reality*. A. A. Knopf, New York 2004, překlad „*Struktura vesmíru*“ Paseka, Praha 2006.
- Smolin L.: *The Trouble with Physics*. Spin Networks 2006, překlad *Fyzika v potížích*. Dokořán, Praha 2009.
- Comenius J. A.: *Disquisitiones de Caloris et Frigoris Natura*. Jansson, Amsterdam 1659
- Šesták J., Mareš J. J.: *J. Thermal Anal. Calor.* 88, 763 (2007).
- Šesták J., Mareš J. J., Hubík P., Proks I.: *J. Thermal Anal. Calor.* 97, 679 (2009).
- Mareš J. J., Stávek J., Šesták J.: *J. Chem. Phys.* 121, 1499 (2004).
- Mareš J. J., Šesták J.: *J. Thermal Anal. Calor.* 82, 681 (2005).
- Mimkes J.: *J. Thermal Anal. Calor.* 43, 521 (1995). *J. Thermal Anal. Calor.* 60, 1055 (2000).
- Montenega R. N., Stanley H. F.: *Introduction to Econophysics: Correlation and Complexity in Finance*. Cambridge University, Cambridge 2000.

Ze života chemických společností

Gratias agit

Za podpory ČSCH udělil ministr Jan Kohout p. Dr. Alfredu Baderovi, jako jedinému laureátovi z USA (!) jednu z letošních cen Gratias agit. Předávání cen by mělo proběhnout 30.4.2010 v Praze. Cena ministra zahraničních věcí Gratias agit za šíření dobrého jména České republiky v zahraničí byla zřízena v roce 1997 jako ocenění předních osobností a organizací za příkladné aktivity v nevládní sféře. Cenou GRATIAS AGIT, mohou být oceněny osoby bez rozdílu národnosti a státní příslušnosti, nezávisle na

zemi jejich původu a současného pobytu, které svojí dlouhodobou činností nad rámec svých profesionálních povinností nebo významným činem cílevědomě přispěly nebo přispívají k šíření dobrého jména České republiky v zahraničí.

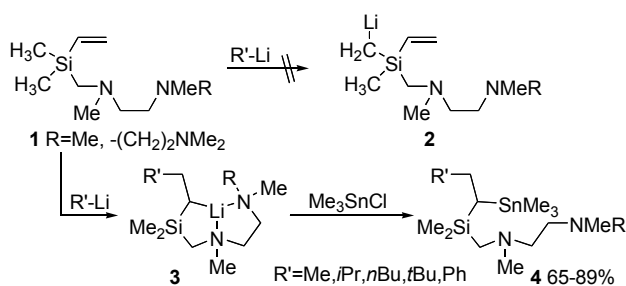
Dr. Bader zřídil prostřednictvím ČSCH dvě ceny pro nadané mladé chemiky z ČR a ustanovil řadu stipendií pro české studenty na prestižních světových universitách. <http://www.csch.cz/ceny-alfreda-badera>

pad

Anglické okénko, horké novinky z chemie

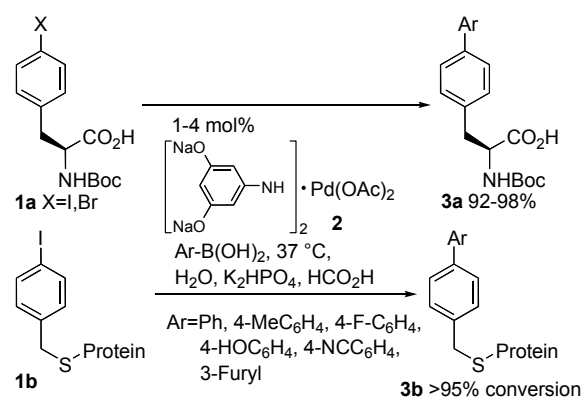
Carbolithiation of Vinylsilanes

(Aminomethyl)vinylsilanes **1** are in contrast to normal vinylsilanes extraordinarily well suited for carbolithiations. Unkelbach and Strohmann showed that organolithium compounds rather add to **1** under very mild conditions to give functionalized alkylsilanes **3** than deprotonating the methyl groups to silylmethyl lithium intermediates **2**, what is the more common reaction path in ordinary vinylsilanes. The structure of the addition products **3** was proven by X-ray crystallography and trapping by trimethyltin chloride in very good yields to stannanes **4**. [J. Am. Chem. Soc. 131, 17044 (2009)]



Suzuki-Miyaura Coupling Aqueous and Biocompatible – A New Click Protocol

The widely used Suzuki-Miyaura coupling may be added soon to the growing arsenal of Click reactions. Davis and coworkers reported that halogenated phenylalanines **1a** or protein-bound aryl iodides **1b**, which can be easily prepared by modification of natural proteins, are coupled to biaryl amino acids **3a** or modified proteins **3b** in excellent yield and chemoselectivity in the presence of the water-soluble palladium catalyst **2** under physiological

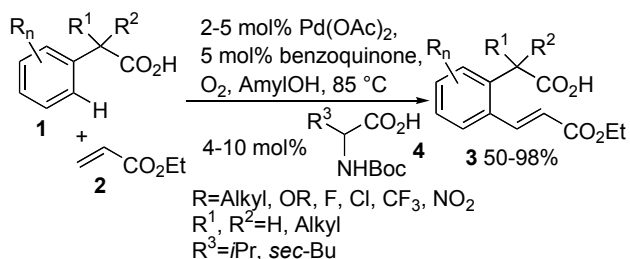


conditions. The reactions proceed with high conversion and tolerate the typical protein functionalities. The amino acid couplings can also be promoted by microwave heating in minutes. This methodology may thus open up new bioconjugation and labeling opportunities. [J. Am. Chem. Soc. 131, 16346 (2009)]

The Alliance of C-H Activation and Heck Reactions

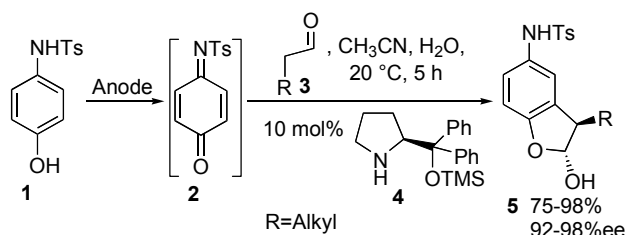
The catalytic direct addition of arenes to olefins and affording arylalkenes that retain the olefin functionality is a widely unexplored field and was so far the domain of the Heck reaction, which requires, however, the use of aryl halides as precursors. Yu and colleagues report now the direct addition of arylacetic acid derivatives **1** to acrylates **2** or other alkenes. The method affords unsaturated dicarboxylic acid derivatives **3** in high yields and excellent selectivity under aerobic conditions. The key is the application of Pd(OAc)₂ as the catalyst and benzoquinone as a catalytic reoxidant. When *N*-Boc-amino acids **4** are applied as ligands, the olefination of otherwise difficult electron-poor arenes succeeds and the regioselectivity in un-

symmetrically substituted substrates can be controlled efficiently. [Science 327, 315 (2010)]



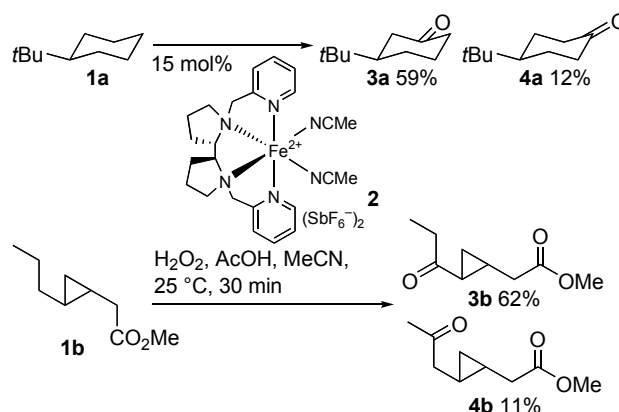
Another Successful Alliance: Electrochemistry and Organocatalysis

Electrochemical redox processes enable the rapid generation of reactive compounds, whose potential in catalytic reactions is widely unknown. Jørgensen's group succeeded to join electrochemical redox processes with organocatalytic protocols. Anodic oxidation of *p*-(*N*-tosylamino) phenol **1** generates the quinone imine **2** *in situ*, which is trapped subsequently in an asymmetric Michael addition with aldehydes **3** in the presence of the prolinol catalyst **4**. The intermediately formed arylacetaldehydes cyclize to valuable benzobutyrolactols **5** in very good yield and enantiomeric excess under the reaction conditions. [Angew. Chem. Int. Ed. 49, 129 (2010)]



Oxidation of Non-Activated C-H Bonds – A Step Closer to Achieve Selectivity

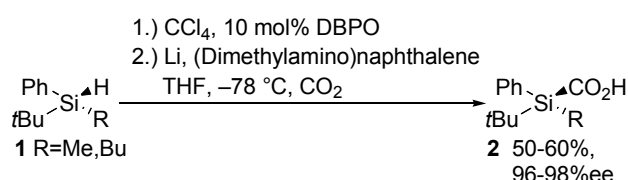
The selective catalytic oxidation of non-activated C-H bonds in alkanes to alcohols or ketones in the presence of a number of similar C-H bonds is an unsolved problem in chemistry. Such oxidations are, however, of enormous importance for the sustainable and effective use of natural resources. Chen und White describe now a catalytic system for the relatively selective oxidation of the oxidation



of unfunctionalized CH₂ groups in alkanes, esters or ketones **1** by application of the defined iron(II) complex **2** and cheap hydrogen peroxide as terminal oxidant. Catalyst **2** is sensitive toward the electronic, stereoelectronic and steric properties of the substrates **1** and allows thus the still not perfect, but unprecedented selective preparation of ketones **3** over **4**. [Science 327, 566 (2010)]

Chiral Silacarboxylic Acids

Chiral silicon compounds are attractive as a replacement for hydrocarbons in many applications because of their physical properties. It is, however, not easy to generate highly enantiomerically enriched chiral organosilicon compounds. Tomooka et al. present now a method to synthesize silacarboxylic acids **2** asymmetrically from easily accessible chiral silanes **1**. Their radical chlorination and reduction with LDMAN provides the corresponding silyllithium intermediates, which are trapped by carbon dioxide



to **2**. All steps proceed with retention of configuration at the silicon center. The further transformation of acid **2** to esters is possible, when Mitsunobu conditions are applied. [Angew. Chem. Int. Ed. 49, 728 (2010)]

Ulrich Jahn

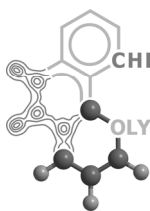
Akce v ČR a v zahraničí

rubriku kompiluje Lukáš Drašar, drasarl@centrum.cz

Rubrika nabyla takového rozsahu, že ji není možno publikovat v klasické tištěné podobě. Je k dispozici na webu na adrese <http://konference.drasar.com>. Pokud má některý čtenář potíže s vyhledáváním na webu, může se

o pomoc obrátit na sekretariát ČSCH. Tato rubrika nabyla již tak významného rozsahu, že ji po dohodě přebírají i některé zahraniční chemické společnosti.

Odborná setkání



Národní kolo 46. ročníku Chemické olympiády

46. ročník úspěšně uzavřel první dekádu Chemické olympiády v novém století. Národní kolo kategorií A a E se uskutečnilo ve dnech 25. – 28. ledna 2010, organizací byla pověřena Vysoká škola chemicko-technologická v Praze ve spolupráci s Českou společností chemickou a Národním centrem pro mladé chemiky. Soutěžní klání probíhala v posluchárnách a laboratořích Fakulty chemické technologie VŠCHT. Záštitu převzali MUDr. Pavel Bém, primátor hlavního města Prahy, doc. Ing. Josef Koubek, CSc., rektor VŠCHT Praha a prof. Ing. Aleš Helebrant, CSc., děkan FCHT VŠCHT Praha.

Úlohy z anorganické chemie se v letošním ročníku týkaly elektronové struktury atomů a molekul s akcentem na sloučeniny dusíku. Výbornou pomůckou pro soutěžící byl přípravný text „Nebojte se kvant“ autorů Tomáše Kubaře a Michala Koláře, který obsahoval i nezbytné základy lineární algebry. Organická chemie byla zaměřena na přípravu a reaktivitu karbonylových sloučenin; k „povinné výbavě“ soutěžících patřily i tzv. jmenné reakce – Darzenova, Wittigova či Perkinova. Podmínkou úspěchu ve fyzikální chemii bylo m.j. osvojení pojmů Hückelova metoda, Hamiltonova matice, molekulový orbital, LCAO aproximace, fotoelektronová spektra, MRI, paramagnetismus i HOMO/LUMO orbitály. Biochemie nabídla problematiku chiralitu v živých soustavách. V praktické části bylo úkolem soutěžících alkalimetrické stanovení obsahu kyselin ve vodných roztocích; v kategorii E byla již ve školním kole zařazena doplňková úloha zaměřená na kvalitativní stanovení aniontů.

Ústřední komise ChO vybrala k účasti v Národním kole v kategorii A (určené pro žáky třetích a čtvrtých ročníků SŠ a odpovídajících ročníků víceletých gymnázií) 45 nejúspěšnějších řešitelů úloh krajského kola a 5 řešitelů úloh kategorie E (určené žákům shodných ročníků SŠ s chemickým zaměřením). V kategorii A bylo zastoupeno celkem 34 gymnázií, z téže školy postoupili nejvýše 4 žáci z Gymnázia Jihlava a 3 z Gymnázia Ostrov. Nejpočetnějšího zastoupení dosáhl kraj Vysočina (6 postupujících), následovaly Jihomoravský kraj, Praha, Středočeský a Zlínský kraj s 5 účastníky.

Národní kolo ChO bylo slavnostně zahájeno v Brožíkově sále Staroměstské radnice. S projevy, zpravidla reflektujícími vztah řečníků k chemii, vystoupili zástupci hl. města Prahy, MŠMT, České společnosti chemické, VŠCHT Praha a FCHT VŠCHT Praha. Mimořádně zaujal projev prof. Rudolfa Zahradníka, čestného předsedy Akademie věd ČR, který potvrdil dlouholetý neformální zájem o „naši“ olympiádu. Po oficiálním zahájení, které přednesl předseda ÚK ChO RNDr. Petr Holzhauser, Ph.D.,

následovala prohlídka prostor Staroměstské radnice a společná večeře v Klubu techniků na Novotného lávce.

Druhý den olympiády patřil tradičně teoretické části soutěže. Soutěžící řešili v průběhu tří hodin úlohy z anorganické, organické, fyzikální chemie a biochemie. Zadání i řešení lze (spolu s výsledkovou listinou 46. ročníku Národního kola ChO) nalézt na stránkách www.chemicka-olympiada.cz. Úspěšnost v jednotlivých chemických disciplínách byla letos vzácně vyrovnaná (anorganická chemie: 42,29 %, organická chemie: 49,36 %, fyzikální chemie: 49,43 %), lepších výsledků bylo dosaženo v biochemii (62,03 %). V kategorii A byla celková úspěšnost řešitelů teoretické části 50,03 %, v kategorii E 45,92 %. Dosažené hodnoty potvrzují odbornou erudici autorů úloh a reálný odhad možností soutěžících.

Dopoledne 27. ledna byla na programu soutěže v obou kategoriích praktická část, odpoledne čekala soutěžící v kategorii E doplňková úloha praktické části. Úspěšnost praxe byla významně vyšší než v teoretické části: v kategorii A dosáhla 87,86 %, v kategorii E 92,13 % v části shodné se zadáním kategorie A a 82,50 % v doplňkové praktické úloze.

Nedílnou součástí národních kol je „doplňkový“, mimosoutěžní program. Právě ten přináší zážitky, které zůstávají ve vzpomínkách účastníků. Organizátoři připravili hned druhý den opravdu zajímavou odpolední exkurzi spojenou s dosud nejdelší cestou v historii ChO – návštěvu Techmania Science Centre v Plzni. Týž den večer se účastníci setkali v klubu CARBON na VŠCHT v Praze. Ve středu odpoledne si mohli soutěžící kategorie A vybrat exkurzi do školního pivovaru, návštěvu mineralogických sbírek, nebo exkurzi do blízké Národní technické knihovny. V podvečer proběhla beseda řešitelů s autory úloh. Studenti mohli sdělit své připomínky k úlohám, autoři a hodnotitelé komentovali řešení a uvedli nejfrekventova-



Foto: Martin Vařeka, vítěz kategorie E, při stanovování kyselin v bílém víně



Foto: Pavel Švec převzal ceny za 1. místo v kategorii A

nější chyby. Vrcholem byl program posledního společného večera: plavba a slavnostní večeře na parníku Czechia. Zážitek v závěru ledna v mrazivé Praze opravdu nečekaný; pohled na zasněžené nábřeží z bezpečí vyhřáté kajuty byl nový i pro rodilé Pražany. Následující programový bod se organizátorům podařilo do poslední chvíle utajit, vědělo se jen, že začne po 22. hodině. Konec dohadům učinilo až rozdáni vstupenek na 3D projekci filmu Avatar.

Čtvrteční dopoledne je každoročně vyhrazeno vyhlášení výsledků Národního kola a závěru soutěže. Slavnostní zakončení 46. ročníku proběhlo na VŠCHT v respiriu budovy B za přítomnosti prof. Ing. Aleše Helebranta, CSc., děkana FCHT VŠCHT Praha a dalších hostů. Bývalé tajemnici Ing. Janě Ševcové z NIDM bylo předáno čestné uznání za práci v Úk ChO. Následovalo netrpělivě očekávané vyhlášení výsledků soutěže, předání účastnických listů, diplomů a věcných cen. Vítězem kategorie E se s celkovým ziskem 82,13 bodů stal Martin VÁŘEKA ze SPŠCh v Pardubicích. V kategorii A zvítězil Pavel ŠVEC z Gymnázia České Budějovice, Jírovcova 8, který dosáhl celkem 91,75 bodu, o 2. a 3. místo se dělí s 88 body Tomáš FIALA z Gymnázia Brno, Vídeňská ul. a Michael JIRÁSEK z Gymnázia Český Brod.

Jeden diplom za 1. místo oficiálně předán nebyl, přesto o jeho oprávnění není pochyb. Patří organizátorům z VŠCHT Praha. Nejenže potvrdili (po předchozích výborných zkušenostech již očekávanou) vysokou úroveň organizace, materiálně-technického zabezpečení a odborného zázemí soutěže, ale navíc připravili řadu příjemných programových překvapení. Využili zkušeností získaných při pořádání krajských kol i několika dřívějších ročníků ústředního kola ChO. Sympatický je systémový přístup – VŠCHT Praha aktivně podporuje talentované zájemce o chemii z řad žáků středních škol při organizaci ChO i Letního soustředění mladých chemiků v Běstvině, ale zároveň již řadu let připravuje prázdninová setkání učitelů chemie – Letní školu pro středoškolské profesory. Děkujeme. Poděkování Úk ChO patří také všem učitelům základních a středních škol, kteří neztratili zájem a věnují se

nadstandardní – mnohdy nedocenené – práci s talentovanými žáky.

Národní kolo skončilo, před námi je Mezinárodní chemická olympiáda (IChO); prvých šestnáct soutěžících v kategorii A se v polovině března zúčastnilo teoretického soustředění na VŠCHT Praha, osm z nich bude pozváno na praktické soustředění, které se uskuteční ve dnech 18. – 23. dubna na Přírodovědecké fakultě UK v Praze. Celkové bodové hodnocení výsledků Národního kola a obou soustředění rozhodne o nominaci družstva, které bude reprezentovat Českou republiku na 42. ročníku IChO v Tokiu. Věříme, že pro naše soutěžící bude mezinárodní soutěž stejně úspěšná jako letošní ročník Národního kola ChO.

Karel Lichtenberg
místopředseda Úk ChO

Zpráva o 5. mezinárodní konferenci Polysaccharides-Glycoscience 2009

Ve dnech 11.–13. listopadu 2009 se konala na Novotného lávce v Praze již pátá mezinárodní konference Polysaccharides-Glycoscience 2009, tentokrát jako součást aktivit EUCHEMS a EuroGlycoScience Forum (aktivita European Science Foundation, ESF)¹. Přednášky byly rozčleněny do pěti sekcí:

1. Fyzikální účinky přírodních polysacharidů (předsedkyně prof. Jana Čopíková),
2. Izolace, charakterizace a analýzy polysacharidů (předseda Dr. Ján Hirsch),
3. Fyzikální vlastnosti a stárnutí materiálů na bázi polysacharidů (předseda prof. Krzysztof Surówka),
4. Využití obrazové analýzy (předseda prof. Zdeněk Bubník),
5. Škrob, pektin – chemie, technologie a využití (předseda Ing. Evžen Šárka).

Celkem bylo na programu konference 19 přednášek, autoři pocházeli z České republiky, Itálie, Polska, Rakouska, Slovenska a Spojených států. Bylo vystaveno 42 posterů; Byly vytvořeny dvě posterové sekce, ve kterých bylo prezentováno 42 posterů.

Příští šestá konference (6th International Conference on Polysaccharides-Glycoscience) je plánována v termínu 29. září až 1. října 2010.

Vědecky zaměřené setkání doplnil kulturní program – návštěva areálu Klementina, zahrnující kouzelnou vyhlídku na noční Prahu z ochozu astronomické věže, prohlídku barokního knihovního sálu s knihami pocházejícími až ze 17. století a s řadou historických přístrojů a posezení v zrcadlové kapli. Konference byla bohatě dokumentována fotografickými snímky, které připravil účastník konference Ivan Jablonský.

Jana Čopíková, Evžen Šárka

Zákony, které ovlivní život chemiků

- 488/2009 Sb. Zákon, kterým se mění zákon č. 59/2006 Sb., o prevenci závažných havárií způsobených vybranými nebezpečnými chemickými látkami nebo chemickými přípravky a o změně zákona č. 258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví a o změně některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů, a zákona č. 320/2002 Sb., o změně a zrušení některých zákonů v souvislosti s ukončením činnosti okresních úřadů, ve znění pozdějších předpisů, (zákon o prevenci závažných havárií), ve znění pozdějších předpisů 488 8558 155 Zákon, kterým se mění zákon č. 235/2004 Sb., o dani z přidané hodnoty, ve znění pozdějších předpisů
- 476/2009 Sb. Nařízení vlády, kterým se mění nařízení vlády č. 146/2007 Sb., o emisních limitech a dalších podmínkách provozování spalovacích stacionárních zdrojů znečišťování ovzduší
- 475/2009 Sb. Nařízení vlády, kterým se mění nařízení vlády č. 615/2006 Sb., o stanovení emisních limitů a dalších podmínek provozování ostatních stacionárních zdrojů znečišťování ovzduší
- 473/2009 Sb. Nařízení vlády, kterým se mění nařízení vlády č. 197/2003 Sb., o Plánu odpadového hospodářství ČR
- 467/2009 Sb. Nařízení vlády, kterým se pro účely trestního zákoníku stanoví, co se považuje za jedy a jaké je množství větší než malé u omamných látek, psychotropních látek, přípravků je obsahujících a jedů
- 462/2009 Sb. Vyhláška, kterou se pro účely poskytování cestovních náhrad mění sazba základní náhrady za používání silničních motorových vozidel a stravné a stanoví průměrná cena pohonných hmot
- 459/2009 Sb. Vyhláška o stanovení výše základních sazeb zahraničního stravného pro rok 2010
- 455/2009 Sb. Nařízení vlády, kterým se pro účely trestního zákoníku stanoví, které rostliny nebo houby se považují za rostliny a houby obsahující omamnou nebo psychotropní látku a jaké je jejich množství větší než malé ve smyslu trestního zákoníku
- 454/2009 Sb. Nařízení vlády, kterým se pro účely trestního zákoníku stanoví, co se považuje za látky s anabolickým a jiným hormonálním účinkem a jaké je jejich větší množství, a co se pro účely trestního zákoníku považuje za metodu spočívající ve zvyšování přenosu kyslíku v lidském organismu a za jiné metody s dopingovým účinkem
- 448/2009 Sb. Vyhláška o stanovení hygienických požadavků na kosmetické prostředky
- 422/2009 Sb. Zákon, kterým se mění zákon č. 563/2004 Sb., o pedagogických pracovnicích a o změně některých zákonů, ve znění pozdějších předpisů
- 419/2009 Sb. Zákon o změně názvu Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně a o změně zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů
- 417/2009 Sb. Zákon, kterým se mění zákon č. 137/2006 Sb., o veřejných zakázkách, ve znění pozdějších předpisů, a některé další zákony
- 415/2009 Sb. Vyhláška o stanovení požadavků na odběr vzorků a způsobu zveřejnění metod laboratorního zkoušení produktů ke krmení
- 397/2009 Sb. Nařízení vlády o informačním systému výzkumu, experimentálního vývoje a inovací
- 380/2009 Sb. Zákon, kterým se mění zákon č. 123/1998 Sb., o právu na informace o životním prostředí, ve znění pozdějších předpisů, a zákon č. 200/1994 Sb., o zeměměřičství a o změně a doplnění některých zákonů souvisejících s jeho zavedením, ve znění pozdějších předpisů
- 361/2009 Sb. Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 10/1994 Sb., kterou se stanoví technické podmínky provedení protivýbucho- vých uzávěr prachových a vodních, a vyhláška č. 22/1989 Sb., o bezpečnosti a ochraně zdraví při práci a bezpečnosti provozu při hornické činnosti a při dobývání nevyhrazených nerostů v podzemí, ve znění pozdějších předpisů, a zrušuje vyhláška č. 12/1994 Sb., kterou se stanoví požadavky na izolační sebezáchrané přístroje s chemicky vázaným kyslíkem, ve znění vyhlášky č. 447/2001 Sb.
- 352/2009 Sb. Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 225/2008 Sb., kterou se stanoví požadavky na doplňky stravy a na obohacování potravin
- 330/2009 Sb. Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 450/2004 Sb., o označování výživové hodnoty potravin
- 315/2009 Sb. Nařízení vlády, kterým se mění nařízení vlády č. 194/2001 Sb., kterým se stanoví technické požadavky na aerosolové rozprašovače, ve znění nařízení vlády č. 305/2006 Sb.
- 279/2009 Sb. Vyhláška o předcházení emisím regulovaných látek a fluorovaných skleníkových plynů
- 256/2009 Sb. Nařízení vlády, kterým se zakazuje uvádění výrobku obsahujícího dimethyl-fumarát na trh nebo do oběhu
- 249/2009 Sb. Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 322/2005 Sb., o dalším studiu, popřípadě výuce, které se pro účely státní sociální podpory a důchodového pojištění považují za studium na středních nebo vysokých školách, ve znění pozdějších předpisů
- 246/2009 Sb. Nařízení vlády, kterým se mění nařízení vlády č. 453/2004 Sb., kterým se stanoví technické požadavky na diagnostické zdravotnické prostředky in vitro
- 243/2009 Sb. Vyhláška o stanovení seznamu osob s uvedením jejich pracovišť, pro jejichž činnost se nevyžaduje povolení k zacházení s návykovými látkami a přípravky je obsahujícími
- 211/2009 Sb. Úplné znění zákona č. 130/2002 Sb., o podpoře výzkumu a vývoje z veřejných prostředků a o změně některých souvisejících zákonů (zákon o podpoře výzkumu a vývoje), jak vyplývá z pozdějších změn
- 205/2009 Sb. Vyhláška o zjišťování emisí ze stacionárních zdrojů a o provedení některých dalších ustanovení zákona o ochraně ovzduší
- 169/2009 Sb. Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 326/2001 Sb., kterou se provádí § 18 písm.a), d), g), h), i) a j) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů, pro maso, masné výrobky, ryby, ostatní vodní živočichy a výrobky z nich, vejce a výrobky z nich, ve znění vyhlášky č. 264/2003 Sb.
- 166/2009 Sb. Vyhláška o stanovení seznamu položek dvojího použití v jaderné oblasti
- 165/2009 Sb. Vyhláška o stanovení seznamu vybraných položek v jaderné oblasti
- 146/2009 Sb. Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 329/2004 Sb., o přípravcích a dalších prostředcích na ochranu rostlin, ve znění vyhlášky č. 371/2006 Sb.
- 141/2009 Sb. Zákon, kterým se mění zákon č. 167/1998 Sb., o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů, ve znění pozdějších předpisů, a některé další zákony
- 139/2009 Sb. Vyhláška o omezení nebezpečných chemických látek a nebezpečných chemických přípravků
- 129/2009 Sb. Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 291/2003 Sb., o zákazu podávání některých látek zvířatům, jejichž produkty jsou určeny k výživě lidí, a o sledování (monitoringu) přítomnosti nepovolených látek, reziduí a látek kontaminujících, pro něž by živočišné produkty mohly být škodlivé pro zdraví lidí, u zvířat a v jejich produktech, ve znění pozdějších předpisů
- 115/2009 Sb. Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 385/2007 Sb., o stanovení seznamu léčivých látek určených k podpůrné nebo doplňkové léčbě
- 110/2009 Sb. Zákon, kterým se mění zákon č. 130/2002 Sb., o podpoře výzkumu a vývoje z veřejných prostředků a o změně některých souvisejících zákonů (zákon o podpoře výzkumu a vývoje), ve

- znění pozdějších předpisů, a další související zákony
- 109/2009 Sb. Zákon, kterým se mění zákon č. 215/2004 Sb., o úpravě některých vztahů v oblasti veřejné podpory a o změně zákona o podpoře výzkumu a vývoje, zákon č. 252/1997 Sb., o zemědělství, ve znění pozdějších předpisů, a zákon č. 218/2000 Sb., o rozpočtových pravidlech a o změně některých souvisejících zákonů (rozpočtová pravidla), ve znění pozdějších předpisů
- 99/2009 Sb. Vyhláška, kterou se mění vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 26/2001 Sb., o hygienických požadavcích na kosmetické prostředky, o náležitostech žádosti o neuvedení ingredience na obalu kosmetického prostředku a o požadavcích na vzdělání a praxi fyzické osoby odpovědné za výrobu kosmetického prostředku (vyhláška o kosmetických prostředcích), ve znění pozdějších předpisů
- 86/2009 Sb. Úplné znění zákona č. 120/2002 Sb., o podmínkách uvádění biocidních přípravků a účinných látek na trh a o změně některých souvisejících zákonů, jak vyplývá z pozdějších změn
- 77/2009 Sb. Vyhláška, kterou se mění vyhláška Státního úřadu pro jadernou bezpečnost č. 317/2002 Sb., o typovém schvalování obalových souborů pro přepravu, skladování a ukládání jaderných materiálů a radioaktivních látek, o typovém schvalování zdrojů ionizujícího záření a o přepravě jaderných materiálů a určených radioaktivních látek (o typovém schvalování a přípravě)
- 73/2009 Sb. Nařízení vlády o předávání informací v souvislosti s mezinárodní přepravou radioaktivního odpadu a vyhořelého jaderného paliva
- 12/2009 Sb. Vyhláška o stanovení postupu zjišťování, vykazování a ověřování množství emisí skleníkových plynů a formuláře žádosti o vydání povolení k emisím skleníkových plynů
- 9/2009 Sb. Zákon, kterým se mění zákon č. 156/1998 Sb., o hnojivech, pomocných půdních látkách, pomocných rostlinných přípravcích a substrátech a o agrochemickém zkoušení zemědělských půd (zákon o hnojivech), ve znění pozdějších předpisů, a další související zákony
- 389/2008 Sb. Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 232/2004 Sb., kterou se provádějí některá ustanovení zákona o chemických látkách a chemických přípravcích a o změně některých zákonů, týkající se klasifikace, balení a označování nebezpečných chemických látek a chemických přípravků, ve znění pozdějších předpisů
- 387/2008 Sb. Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 381/2007 Sb., o stanovení maximálních limitů reziduí pesticidů v potravinách a surovinách, ve znění pozdějších předpisů
- 378/2008 Sb. Vyhláška o stanovení procesu schvalování plastických trhavin, které neobsahují detekční látky
- 371/2008 Sb. Zákon, kterým se mění zákon č. 356/2003 Sb., o chemických látkách a chemických přípravcích a o změně některých zákonů, ve znění pozdějších předpisů
- 369/2008 Sb. Vyhláška, kterou se mění vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 26/2001 Sb., o hygienických požadavcích na kosmetické prostředky, o náležitostech žádosti o neuvedení ingredience na obalu kosmetického prostředku a o požadavcích na vzdělání a praxi fyzické osoby odpovědné za výrobu kosmetického prostředku (vyhláška o kosmetických prostředcích), ve znění pozdějších předpisů
- 297/2008 Sb. Zákon, kterým se mění zákon č. 120/2002 Sb., o podmínkách uvádění biocidních přípravků a účinných látek na trh a o změně některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů, a některé související zákony
- 272/2008 Sb. Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 381/2007 Sb., o stanovení maximálních limitů reziduí pesticidů v potravinách a surovinách
- 229/2008 Sb. Vyhláška o výrobě a distribuci léčiv
- 228/2008 Sb. Vyhláška o registraci léčivých přípravků
- 226/2008 Sb. Vyhláška o správné klinické praxi a bližších podmínkách klinického hodnocení léčivých přípravků
- 225/2008 Sb. Vyhláška, kterou se stanoví požadavky na doplňky stravy a na obohacování potravin
- 224/2008 Sb. Úplné znění zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, jak vyplývá z pozdějších změn
- 208/2008 Sb. Vyhláška, kterou se provádí zákon o některých opatřeních souvisejících se zákazem chemických zbraní
- 190/2008 Sb. Vyhláška, kterou se mění vyhláška Ministerstva zemědělství č. 141/1997 Sb., o technických požadavcích na výrobu, skladování a zpracování lihu, ve znění pozdějších předpisů
- 168/2008 Sb. Zákon, kterým se mění zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů
- 150/2008 Sb. Vyhláška o kontrole výroby a oběhu lihu a o provedení dalších ustanovení zákona o lihu s tím souvisejících
- 145/2008 Sb. Nařízení vlády, kterým se stanoví seznam znečišťujících látek a prahových hodnot a údaje požadované pro ohlašování do integrovaného registru znečišťování životního prostředí
- 138/2008 Sb. Zákon, kterým se mění zákon č. 19/1997 Sb., o některých opatřeních souvisejících se zákazem chemických zbraní a o změně a doplnění zákona č. 50/1976 Sb., o územním plánování a stavebním řádu (stavební zákon), ve znění pozdějších předpisů, zákona č. 455/1991 Sb., o živnostenském podnikání (živnostenský zákon), ve znění pozdějších předpisů, a zákona č. 140/1961 Sb., trestní zákon, ve znění pozdějších předpisů, ve znění pozdějších předpisů
- 85/2008 Sb. Vyhláška o stanovení seznamu léčivých látek a pomocných látek, které lze použít pro přípravu léčivých přípravků
- 84/2008 Sb. Vyhláška o správné lékařské praxi, bližších podmínkách zacházení s léčivými v lékárnách, zdravotnických zařízeních a u dalších provozovatelů a zařízení vydávajících léčivé přípravky
- 83/2008 Sb. Nařízení vlády, kterým se mění nařízení vlády č. 461/2002 Sb., o účelové podpoře výzkumu a vývoje z veřejných prostředků a o veřejné soutěži ve výzkumu a vývoji, a nařízení vlády č. 462/2002 Sb., o institucionální podpoře výzkumu a vývoje z veřejných prostředků a o hodnocení výzkumných závěrů, ve znění nařízení vlády č. 28/2003 Sb.
- 25/2008 Sb. Zákon o integrovaném registru znečišťování životního prostředí a integrovaném systému plnění ohlašovacích povinností v oblasti životního prostředí a o změně některých zákonů
- 5/2008 Sb. Vyhláška o seznamu účinných látek
- 4/2008 Sb. Vyhláška, kterou se stanoví druhy a podmínky použití přídatných látek a extrakčních rozpouštědel při výrobě potravin
- 1/2008 Sb. Nařízení vlády o ochraně zdraví před neionizujícím zářením
- 385/2007 Sb. Vyhláška o stanovení seznamu léčivých látek určených k podpurné nebo doplňkové léčbě
- 381/2007 Sb. Vyhláška o stanovení maximálních limitů reziduí pesticidů v potravinách a surovinách
- 378/2007 Sb. Zákon o léčivech a o změnách některých souvisejících zákonů (zákon o léčivech)
- 229/2007 Sb. Nařízení vlády, kterým se mění nařízení vlády č. 61/2003 Sb., o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech
- 171/2007 Sb. Zákon, kterým se mění zákon č. 130/2002 Sb., o podpoře výzkumu a vývoje z veřejných prostředků a o změně některých souvisejících zákonů (zákon o podpoře výzkumu a vývoje), ve znění pozdějších předpisů
- 135/2007 Sb. Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 221/2004 Sb., kterou se stanoví seznamy nebezpečných chemických látek a nebezpečných chemických přípravků, jejichž uvádění na trh je zakázáno nebo jejichž uvádění na trh, do oběhu nebo používání je omezeno, ve znění pozdějších předpisů

pad

Zprávy

Vybudování nové laboratoře procesního inženýrství

Na Vysoké škole báňské – Technické univerzitě Ostrava (VŠB–TUO) je akreditován studijní program Procesní inženýrství od akademického roku 1999/2000. Náplní stejnojmenného předmětu jsou přednášky a výpočtová cvičení; praktické laboratorní úlohy se dosud provizorně realizovaly formou blokových měření v laboratořích VŠCHT v Praze. Z kapacitních důvodů se laboratorních stáží účastnili pouze posluchači studijního oboru Chemické inženýrství. Tento neuspokojivý stav se podařilo vyřešit v roce 2009 díky finanční podpoře Fondu rozvoje vysokých škol (FRVŠ).

Realizací projektu FRVŠ č. 2619 Aa „Laboratoř procesního inženýrství“ byly vybudovány vlastní výukové prostory, které na VŠB–TUO dosud chyběly. Nově zřízená laboratoř je vybavena sedmi experimentálními stanicemi, na kterých lze studovat fyzikální a chemické procesy s plyny, kapalinami i pevnými látkami v čtvrtprovozním měřítku. Pro realizaci byly vybrány následující jednotkové operace: sušení, filtrace, sdílení tepla, absorpce, rektifikace, usazování a dále palivové články. Jedná se vesměs o originální aparatury navržené na míru podle zadané specifikace. Výukové stanice byly navrženy tak, aby byly názorné, bezpečné a jednoduché z hlediska obsluhy a samozřejmě odpovídaly současným trendům v procesním inženýrství.

Nový předmět „Laboratorní cvičení z procesního inženýrství“, určený pro studijní program Procesní inženýrství i pro nepovinně volitelné kurzy probíhající na jiných fakultách, bude zaveden do výuky v akademickém roce 2010/2011. Počítá se s laboratorními úlohami různých obtížností, které by odpovídaly požadavkům pro praktickou výuku v bakalářském i magisterském studiu. Mimo to mohou vybavení laboratoře využívat také účastníci kurzů celoživotního vzdělávání. Práce v laboratoři umožňují bezprostřední kontakt s nejběžnějšími zařízeními chemického průmyslu, samostatnou obsluhu jednotlivých aparatur a ověření teoretických vztahů v praxi. Zavedení praktické výuky tak přispěje k lepšímu pochopení jednotkových chemicko-inženýrských operací a zvýšení hodnoty absolventů na trhu práce.

V současné době probíhá návrh a odzkoušení jednotlivých laboratorních úloh a příprava návodů do cvičení. Do prací v laboratoři jsou zapojeni také studenti magisterských a doktorských studijních programů, přičemž konkrétní chemicko-inženýrské úlohy jsou náplní tří diplomových a jedné disertační práce.

Řešitelský kolektiv pevně věří, že realizace projektu „Laboratoř procesního inženýrství“ výrazným způsobem přispěje k rozvoji vzdělávacího procesu nejen na Fakultě metalurgie a materiálového inženýrství VŠB–TUO.

Kateřina Smutná

Diskuse

Návrh k opravě českého názvosloví chemického

V tomto příspěvku navrhujeme doplnění českého chemického názvosloví o novou koncovku -utý odpovídající oxidačnímu stupni IX. Vydáváme se tak po již poněkud zapadáných šlépějích Jana Svatopluka Presla¹, Vojtěcha Šafaříka², Emila Votočka³ a Alexandra Sommera-Baťka⁴, z jehož stati v tomto listu jsme si také vypůjčili titulek.

České chemické názvosloví ve formě, v jaké bylo postupně dotvořeno výše uvedenými badateli, důmyslným způsobem šifruje oxidační stavy atomů v podvojných (tj. ze dvou prvků se skládajících) sloučeninách pomocí koncovek přídatných jmen. Původní názvosloví Preslovo bylo dotvořeno Šafaříkem a na začátku 20. století doznalo výrazné změny v souvislosti se změnou paradigmatu (jak bychom řekli dnes) od pohledu ekvivalentového ke směru atomovému. Poslední větší reforma českého chemického názvosloví (vedoucí k tzv. sjezdovému názvosloví³) zakládá české chemické názvosloví na osmi vzorcích oxidů:

Oxid	Koncovka
R ₂ O	-ný
RO	-natý
R ₂ O ₃	-itý
RO ₂	-ičitý
R ₂ O ₅	-ečný/ičný
RO ₃	-ový
R ₂ O ₇	-istý
RO ₄	-ičelý

Od těchto oxidů lze pak odvodit názvy jiných podvojných sloučenin i sloučenin potrojných. Tak například CaCO₃ lze vidět jako CaO·CO₂, tedy uhličitán vápenatý.

Sjezdové názvosloví sloužilo českým (a slovenským) chemikům k plné spokojenosti bezmála jedno století, byť s využitím mladších pojmů jako je oxidační číslo. Současná doba však začíná bolestně pociťovat potřebu rozšířit tabulku až k oxidačnímu stupni IX. Prvků, které mohou

dosahovat takto vysokého oxidačního čísla, není mnoho. Ale ani sloučenin s oxidačním číslem VIII nebylo zpočátku příliš – v době vzniku názvosloví zahrnujícího speciální koncovku pro toto oxidační číslo byla známa pouze jedna sloučenina, a to oxid osmičelý, a sloučenin obsahujících nějaký prvek v tomto oxidačním stavu není tuze moc ani dnes. K osmiu přibýlo ruthenium, xenon, a dočista nedávno byl v počtu několika molekul připraven i oxid odvozený od hassia, tj. oxid hassičelý (HsO_4) (cit.⁵). Ještě novějším přírůstkem je oxid iridičelý, IrO_4 , který byl identifikován v kryogenní matici vzácných plynů⁶.

U poslední sloučeniny se na chvíli zastavme: sloučenina IrO_4 má jeden zbylý nepárový elektron v *d* orbitalu. Naskytá se tak otázka, zda a jak obtížně může být tento elektron vytržen, tj. zda nemůže existovat i sloučenina s oxidačním číslem centrálního atomu iridia větším než VIII. Před zodpovězením této otázky je jistě dobré si nejdříve ujasnit, co znamená formulace, že sloučenina existuje. „Existence sloučeniny“ má totiž různé stupně.

1. Na nejnižší úrovni stačí, pokud jsme schopni vzorec sloučeniny nakreslit na papír; tato forma existence však u řady čtenářů jistě neobstojí.
2. Sloučenina však existuje o něco více, pokud daná struktura vykazuje minimum na hyperploše potenciální energie. Pak je izolovatelná či detekovatelná alespoň jako tranzitní species v kryogenních maticích.
3. Ještě reálnějších obrysů sloučenina nabude, pokud je stálá vůči unimolekulárnímu rozkladu (volně přeloženo: molekula za rozumných podmínek drží pohromadě).
4. Nejvyšším „stupněm existence“ pak je, pokud danou látku získáme v množství, do kterého lze rýpnout špachtlí.

D. Himmel a spol.⁷ nedávno na základě sofistikovaných kvantově-chemických výpočtů ukázali, že kation $[\text{IrO}_4]^+$ (ve kterém je iridium v oxidačním stavu IX) je stabilní vůči ztrátě molekuly kyslíku (tj. může existovat v souladu s bodem 3), a dokonce, že tento kation by na základě výpočtů pomocí Bornova-Haberova cyklu mohl s vhodně vybraným aniontem (např. hexafluoridoantimoničnanem) vytvářet stabilní sůl (bod 4). Podobně by se mohlo chovat také meitnerium, prvek 109. Autoři zkoumali také fluoridy těchto prvků v oxidačním stavu IX. Zde se bohužel ukázalo, že IrF_9 není stabilní vůči rozkladu na IrF_7 a F_2 . Podotkněme, že ion $[\text{IrO}_4]^+$ byl pravděpodobně již detekován při β^- rozpadu $^{193}\text{OsO}_4$.⁸ Takovouto formou přípravy může chemik pohrdat, ale připomínáme, že třeba bromistany (o jejichž neexistenci byli chemikové po léta přesvědčeni, a v počátcích kvantové chemie vypočítali i nemožnost jejich vzniku) byly poprvé připraveny způsobem zcela podobným⁹.

bem zcela podobným⁹.

Nicméně, ať už je příprava sloučenin s prvky v oxidačním stupni IX na dosah či si na ni ještě počkáme, setkáváme se s těmito sloučeninami alespoň na úrovni

Oxidační číslo	Koncovka	Příklad názvu	Vzorec
I	-ný	chlorid sodný	NaCl
II	-natý	sulfid olovnatý	PbS
III	-itý	oxid hlinitý	Al_2O_3
IV	-ičitý	oxid dusičitý	NO_2
V	-ečný/-ičný	oxid fosforečný	P_2O_5
VI	-ový	fluorid sírový	SF_6
VII	-istý	oxid rhenistý	Re_2O_7
VIII	-ičelý	oxid hassičelý	HsO_4
IX	-utý	fluorid iridutý	IrF_9

literární a české písemnictví na to musí být náležitě připraveno. Navrhujeme proto k označení oxidačního stupně IX koncovku -utý.* Ta je většinou populace** pocíťována jako přinejmenším stejně libozvučná jako jejich 8 starších sourozenců, zejména libozvučně pak zní u prvků, jichž se oxidační stupeň IX týká nejvíce (kupř. IrF_9 , fluorid iridutý). Doplněná tabulka dle reformy Slavička a Kotka tedy vypadá takto:

Názvy složitějších sloučenin se budou vytvářet po způsobu Votočkově, například $[\text{IrO}_4]\text{SbF}_6$ nazveme jako hexafluoridoantimoničnan tetraoxoiridutý.

V souvislosti s naším reformním návrhem připomeneme ještě dva aspekty, které by neměly být přehlédnuty. České názvosloví není pouhou odbornou hantýrkou, ale je také učební látkou, kulturním fenoménem a národní chloubou. Jako učební látka představují koncovky oxidačních stavů pevný základ českého chemického vzdělání, jeho procvičování a zkoušení třetí mentální kvality řady generací. Naše reforma proto znamená další vzpruhu českého chemického vzdělávání. Důležitý je však i moment národní. V době, kdy český jazyk úpí pod nánosy anglicismů a český prezident se obává o svrchovanost naší země pod evropským diktátem, představuje koncovka -utý pro IX. oxidační stupeň pevné ukotvení českého národa.

Petr Slaviček, VŠCHT Praha
Jan Kotek, Univerzita Karlova, Praha

LITERATURA

1. J. S. Presl: *Lučba čili chemie zkusmá*. I. díl, Praha 1828, II. díl Praha 1835.

* Pro účely budoucího historického bádání v dějinách chemie podotkněme, že koncovka -utý byla navržena jednomu z autorů (PS) Jiřím Kolafou místo původně navrhované koncovky -ičutý. Stalo se tak v pátek 12. února 2010 v průběhu oběda v Menze ČVUT.

** Bleskového průzkumu se zúčastnili studenti bakalářského, magisterského i postgraduálního studia, odborní asistenti, docenti a profesoři působící na katedře anorganické chemie PřF UK. Mezi volenými možnostmi -utý, -ičutý, -ičatý, -ušatý, -učený a -uzený měla zvolená varianta největší podporu.

2. V. Šafařík, v knize: *Německo-český slovník vědeckého názvosloví pro gymnasia a reálné školy* (P.J. Šafařík, ed.), Praha 1853. Viz také B. Hájek, L. Niklíček, I. Manová: Chem. Listy 73 (1979).
3. E. Votoček: *Anorganická chemie*. III. vydání, str. 150. Česká společnost chemická, Praha 1940.
4. A. Batěk: *Listy Chemické* 24, 275 (1900).
5. V. Wagner: *Vesmír* 85, 291 (2006).
6. Y. Gong, M. Zhou, M. Kaupp, S. Riedel: *Angew. Chem. Int. Ed.* 48, 7879 (2009).
7. D. Himmel, C. Knapp, M. Patzsche, S. Riedel: *Chem. Phys. Chem.* DOI: 10.1002/cphc.20900910.
8. P. Rother, F. Wagner, U. Zahn: *Radiochim. Acta* 11, 203 (1969).
9. E. H. Appelman: *Acc. Chem. Res.* 6, 113 (1973).

Osobní zprávy

Ing. Věra Duřová – Richterová slaví 75 let

Žen, které se věnovaly průmyslové chemii, je málo. Jednou z nich je Ing. Věra Duřová – Richterová. Studovala na Vysoké škole chemicko-technologické v Praze obor „Tepelná technika“. Pak pracovala ve Státním výzkumném ústavu pro stavbu strojů, Běchovice. Moji vrstevníci ji ale asi znají z doby, kdy pracovala na generálním ředitelství CHEMOPETROL ve skupině Dr. Ing. Vladimíra Mráze na projektech vývoje a inovací. Tak, jak jsem ji poznal po odborné stránce, Ing. Věra Duřová – Richterová brala svoji pracovní úlohu vždy velmi vážně, její formulace byly ale někdy trochu svérázné. Pamatuji se na jednu obhajobu z dob, kdy začaly být používány počítačové simulace chování výrobních jednotek, kdy prohlásila „že je proti lidskému rozumu počítat výrobu odzadu“. Byla tedy svéráznou osobností, která brala svoje pracovní úkoly velmi vážně.

Ing. Ing. Věra Duřová – Richterová je autorkou nebo spoluautorkou 20 výzkumných zpráv, 82 článků v odborných časopisech, 10 autorských osvědčení, její osobnost je připomenuta v publikaci *Who is Who in the World* v roce 1999, obdržela certifikát International Bibliographical Centre (Cambridge) jako osobnost, která se zasloužila o úspory energie a další odborná ocenění.

Přejeme Ing. Duřové, aby si přesto, že na ni leží starosti s nemocí v rodině, zachovala zájem o odborné průmyslové problémy a těší nás, že uvádí, že jejím hlavním spojením s odborným světem je časopis *Chemické listy*.

Josef Horák

Za inženýrem Jiřím Kožuchem

Inženýr Jiří Kožuch se 2. listopadu 2009 dožil 85 let. Při této příležitosti mu představenstvo Společnosti průmyslové chemie za jeho zásluhy o rozvoj chemického průmyslu na Ostravsku udělilo Cenu Viktora Ettela, která mu měla být slavnostně předána u příležitosti konference APROCHEM 2010.

Inženýr Kožuch se však předání tohoto významného ocenění nedožil. Opustil nás po těžké nemoci počátkem ledna. Když jsem jej v prosinci navštívil, tak byl ještě plný optimismu, živě se zajímal o dění ve fabrice a na předání ceny se velmi těšil. Odešel člověk, který se zásadním způ-

sobem zasloužil o rozvoj průmyslové chemie na Ostravsku. Jeho život byl plnohodnotný a naplněný.

Narodil se v rodině lékaře a po absolvování reálného gymnasia pracoval za války jako dělník na koksovně. V letech 1945–1950 studoval na VUT Praha technickou chemii. Po absolvování vysokoškolského studia nastoupil do tehdejších Dusíkáren v Ostravě jako chemik ve výzkumu a podniku zůstal věrný až do odchodu do důchodu v roce 1986. Vzhledem ke svým schopnostem byl brzy pověřen vedením výroby cyklohexanonu, kde se rozvíjela technologie výroby této důležité suroviny pro originální československou výrobu Silonu. Na počátku 60. let pak byla zásluhou Ing. Kožucha zprovozněna jednotka na výrobu cyklohexanonu s kapacitou 10 000 tun.

Od roku 1957 byl pak pověřen řízením 3. cechu se záměrem rozvinout produkci organických chemikálií. Pod jeho vedením se začala zavádět řada nových výrobků. V rámci Dusíkáren byl vyvinut nový typ lepidla se širokým průmyslovým využitím. V roce 1958 byla zahájena výroba nového močovino-formaldehydového lepidla, které bylo distribuováno v několika modifikacích pod označením „Dukol“ (hlavní podíl na zavedení výroby Dukolu v MCHZ měl Ing. Kožuch a Ing. Suchý). Výrobek našel bohaté využití v dřevozpracujícím průmyslu pro výrobu dřevotřísky, dřevovláknitých a pazdřevých desek, k výrobě překližek a tvarovaných překližkových materiálů. Ve spolupráci s Chemoprojektem byla vyvinuta a provozně odzkoušena nová technologie výroby močoviny s recyklací, která pak byla jako licence mnohonásobně zrealizována v zahraničí.

Naprostou zásadní vliv pro rozvoj Dusíkáren však měla skutečnost, že Ing. Kožuch počátkem 60. let pozval ke spolupráci tehdejšího asistenta na VŠCHT Praha nynějšího profesora Josefa Paška. Z jejich spolupráce vyšla celá řada originálních technologií, které byly v Dusíkárnách realizovány (cyklohexanon, cyklohexylamin, dicyklohexylamin, anilin, isopropylamin).

Od roku 1969 se stal technickým náměstkem a později vedoucím technického rozvoje. Pro své technické a organizační schopnosti byl brzy uznávanou autoritou v rámci ministerstva průmyslu, státní plánovací komise a generálních ředitelství Unichem, Chemopetrol i Slochemia, ale i v zahraničí. Naprostou zásadní roli pak sehrál při zásadní modernizaci Dusíkáren v 80. letech. Začátkem 70. let se připravovala dohoda RVHP o specializaci česko-

slovenského průmyslu na výrobu gumárenských chemikálií založených na anilinu a odhadovalo se, že by potřebná výroba anilinu měla dosáhnout až 50 000 t ročně. Díky obratnému jednání tehdejšího výrobně technického náměstka Ing. Jiřího Kožucha se podařilo státní plánovací orgány přesvědčit o výstavbě takovéto jednotky v Ostravě. V rámci této stavby se podařilo vybudovat moderní velkokapacitní výrobní anilinu, nitrobenzenu, koncentrované kyseliny dusičné, vodíku, ale především modernizovat již velmi zastaralou infrastrukturu. Ing. Kožuch měl díky svým organizačním a řídicím schopnostem zásadní vliv na to, se podařilo tak velkou investici realizovat a v roce 1985 úspěšně najet do provozu.

Byl rovněž externím učitelem bývalé Vysoké školy chemicko-technologické v Pardubicích, kde předával své zkušenosti z technologie studentům konzultačního střediska v Ostravě. Pro nás, kteří jsme měli možnost s ním spolupracovat, především pak pro patrioty dusíkarenského 3. cechu byl inženýr Kožuch vzorem šéfa. A tím „šéfem“ zůstane stále, takže šéfe, budeme na Vás stále vzpomínat s úctou.

*Za Vaše spolupracovníky
a především přátele 3. cechu Jaromír Lubojacký*



Vzpomínka na Petra Sedmera

30. ledna 2010 nás opustil ve věku 68 let po krátké těžké nemoci náš kolega, přítel a učitel Ing. Petr Sedmera, CSc., vědecký pracovník Mikrobiologického ústavu AV ČR v Praze, specialista v oboru organické spektroskopie, především nukleární magnetické rezonance.

Petr Sedmera se narodil 11. 1. 1942 v Plzni do učitelské rodiny. Základní školu a gymnasium (1959) absolvoval ve Stříbře. Poté vystudoval Vysokou školu chemicko-technologickou v Praze a promoval v r. 1964. Po studiu nastoupil do tehdejší laboratoře speciální anorganické chemie v Řeži, kde se zabýval mimo jiné syntézou hydridů. Zde publikoval také svoji první vědeckou práci – jak jinak než v Chemických listech – “Diborane as a reducing agent”¹. V roce 1967 pak přešel do Ústavu organické chemie a biochemie, kde začal pracovat v laboratoři Spektrálních metod na nukleární magnetické rezonanci, která se pak stala po zbytek života jeho osudem. Zde též začal působit jako abstraktor pro Chemical Abstracts a tato zkušenost mu potom přinesla nejen dokonalou znalost angličtiny, ale především přesné analytické myšlení, které mu vždy později umožnilo odlišit špatné od dobrého, ve vědě – ale i v životě.

Během svého pobytu v ÚOCHB se začal zabývat mimo jiné strukturálními studii alkaloidů ve spolupráci s prof. Šantavým z Olomouce. Strukturální studium alkaloi-

dů, především námelových alkaloidů, morfinanů, ale i mnoha dalších, se stalo jedním z jeho hlavních zájmů a v této oblasti se stal světově uznávaným odborníkem. Kromě toho se začal zabývat též výpočetními metodami, které tehdy byly ještě v plenkách, a i v této oblasti se mu podařilo dosáhnout významných výsledků, např. při konstrukci modelů steroidů².

V bouřlivém roce 1968 se osobně velmi angažoval a díky své lásce k pravdě a schopnosti pravdu hledat a též ji beze strachu přednášet se zajisté dopustil mnoha pravdivých výroků, které mu pak lidé nízkých mravů nemohli odpustit. Poté mu po dlouhou dobu komplikovali osobní i profesní život. V roce 1971 přešel do Mikrobiologického ústavu AV ČR, kde byl pověřen založením a rozvojem tehdy ještě velmi nezralých spektrálních strukturálních metod pro analýzu přírodních látek a mikrobiálních metabolitů. Již tehdy měl připravenou kandidátskou disertační práci na téma “Stínící efekty polárních skupin v NMR”, kterou mu však nebylo dovoleno obhájit.

Petr se nikdy takovými nízkostmi nenechal odradit a intenzivně bádával vědecky – o jeho pracovitosti svědčí téměř tři sta publikací, jejichž byl autorem či spoluautorem, a o kvalitě jeho práce vypovídá přes 3 tisíce citací, tj. průměrně 10 citací na jednu práci.

Na Mikrobiologickém ústavu přišel – jako “hard chemist” – do úzkého kontaktu s biologií, v době, kdy ještě interdisciplinární “frontier sciences” nebyly tak populární jako nyní. To samozřejmě vedlo k mnoha “střetům různých civilizací”, kdy Petr nadšeně hledal nové antibiotik, alkaloidů a jiných, všeobecně prospěšných “faktorů”, dostával na pevnou zem. Sám říkal, že pro tuto komunitu je cosi jako patologem v medicíně. Jeho časté a dosti jedovaté komentáře na téma “alifatika, aromatika a ftaláty” doháněly některé, především mladší vědecké pracovníce, k slzám. Na druhou stranu však dokázal velmi často vytěžit, jak se říká, “z lejna zlato”, kdy často z miligramového vzorku získaného složitými extrakčními postupy z desítek litrů mikrobiálních kultur, určil strukturu zcela nové látky. Například se zásadním způsobem podílel na objevu a popisu (asi jediného) původního československého antibiotika Mucidinu³, které se pak dostalo až do klinického používání jako antirykolytikum.

K tomu se samozřejmě vázaly některé poněkud komické momenty, které si Petr se svým vyhraněným smyslem pro humor dokonale vychutnával. Například jednou izolovala skupina mikrobiologů, navíc ještě ve spolupráci se sovětskými soudruhy, jakýsi “faktor”, který neobyčejně stimuloval růst prakticky všech mikroorganismů. Byla z toho velká sláva a biologové byli pod tlakem, aby se konečně podařilo “dohnat a předechnat...”, a látku bylo třeba především strukturálně určit. Bylo to dost komplikované, neb látka byla hodně polární a vůbec se chovala dost “nemravně”. Nakonec s velkou slávou odevzdali na měření několik miligramů “štofu” a druhý den jim Petrem bylo suše sděleno, že ta glukosa nebyla moc čistá, ale třeba by mu mohli přinést víc vzorku z nějaké fľašky ze skříně

Jiný takový “objev” byl nový námelový alkaloid izolovaný ze submersní kultury *Claviceps purpurea*, obsahu-

jící v molekule atom síry (dle elementární analýzy), což by byl v té době unikát. Strukturu se pořád nedařilo určit (na NMR), protože signálů bylo málo a dalším čištěním pořád ubývaly. Nakonec Petr uzavřel (ale asi ne z NMR), že jde o ne moc čistý síran amonný

Petrova schopnost analýzy “komplexních” vzorků však přinesla své ovoce např. v některých objevných metabolických studiích, kdy se např. hlavně jeho zásluhou podařilo objevit zcela novou metabolickou dráhu u streptomycet⁴.

Petr Sedmera byl nejen výtečný vědec, ale též vychovatel a učitel pro nás mladší, hlavně ty, kteří inklinovali k chemii. Používal sice metody “Dr. House” ze známého televizního seriálu, ale kdo vydržel, tak toho pak začal uznávat – největší pochvalou bylo tak “not too bad....”, většinou se ale nechválilo; větší odměnou bylo, kdy s námi jako rovný s rovnými opravdu intenzivně pracoval na výsledných publikacích a pomáhal psát peprné odpovědi na komentáře recenzentů.

Po roce 1989 byly konečně jeho vědecké zásluhy oceněny, obhájil kandidaturu a v září 1990 byl jmenován vedoucím Laboratoře spektroskopické analýzy na MBÚ, kterou vedl až do r. 2006 a kde pak dále až do konce se zápalem pracoval. Kromě své aktivity v laboratoři se též nadšeně věnoval spolkové činnosti – byl velmi aktivní v České společnosti chemické, i v jejím výboru. Tato společnost mu v r. 1995 udělila jedno ze svých nejvyšších ocenění, a to Hanušovu medaili.

Pro všechny nás mladší byl takovou osobou, pro jaké mají Japonci titul “Sensei” (先生) – Učitel, Rádce, Morální autorita, Mistr....

Zákeřná nemoc ho zasáhla v plné aktivitě a přes velké utrpení do poslední chvíle tvrdě pracoval, aby pak odešel bez velkého loučení před vánocemi. Vše, co mohl, ještě dokončil a i z domova velmi obětavě dotahoval mnoho rozpracovaných úkolů.

Dvanáctého ledna 2010 jsem od Petra dostal krátkou SMS zprávu: “Vláďo promiň, snažil jsem se koncem minulého roku toho co nejvíce stihnout, ale na rozloučení mi nezbyl čas, pokud ještě funguji, mohu radit....”

Myslím, že kdyby dostal erb, pak by si do něj s hrdostí mohl vepsat heslo “Ich dien” “sloužím” - erbovní motto Prince z Walesu ...

LITERATURA

1. Sedmera P.: Chem. Listy 61, 1021 (1967).
2. Sedmera P., Vitek A., Samek Z: Collect. Czech. Chem. Commun. 37, 3828 (1972).
3. Sedmera P., Musílek V., Nerud F., Vondráček M.: J. Antibiot. 34, 1069 (1981).
4. Pospíšil S., Sedmera P., Havránek M., Krumphanzl V., Vaněk Z.: J. Antibiot. 36, 617 (1983).

Vladimír Křen

Petr Sedmera in memoriam

Krátce po tom, co jsem před více než 30 lety nastoupil na výzkumné oddělení opavské Galeny, jsem byl vyslán na Mikrobiologický ústav ČSAV, s nímž jsme tehdy spolupracovali na problematice námelových alkaloidů. A už tehdy na mě udělal největší dojem Petr Sedmera a jeho laboratoř spektrálních metod a mým přáním bylo s tímto člověkem spolupracovat. Brzy jsem k tomu měl příležitost, protože se nám podařilo izolovat několik nových alkaloidů. A byl jsem velmi potěšen, když mě Petr přijal jako kolegu. Mělo to jednu podmínku. Dodané vzorky musely být měřitelné, čili, nesměly to být „sajrajty“. Pokud se někdo z kolegů u Petra špatně uvedl, těžko se to napravovalo. Naopak spolupracovníkům dovedl leccos odpustit. I já jsem v pozdějších letech dodal „sajrajty“, ale potom už se to obešlo jenom několika poznámkami. Kolegou jsem zůstal. Petra v tomto přístupu ke kolegům dobře charakterizuje jeho obvyklá prűpovídka: „jó, je to složitý, ale někteří to umí“.

V následujících letech jsme postupně izolovali, identifikovali a popsali několik nových alkaloidů. My v Galeně jsme byli na začátku toho řetězce a Petr na jeho konci. Nejenže přispěl rozhodujícím způsobem k identifikaci látky, ale i práce se sepisováním publikací ležela zpočátku jenom na něm. Malým oceněním této jeho práce je jméno jednoho nového alkaloidu, ergosedmin.

Ale i mistr tesař se utne. Na začátku devadesátých let se nám podařilo izolovat nový peptidický alkaloid. Tyto alkaloidy představují vlastně tetrapeptidy, kde první je kyselina lysergová, poslední je prolin a druhá a třetí aminokyselina jsou variabilní. Náš nový alkaloid byl izolován jako nečistota α -ergokryptinu, který má na druhé pozici valin a na třetí pozici leucin a měl jeden uhlík navíc. Logický závěr byl, že nový alkaloid má na druhé i třetí pozici leucin. No a Petr tuto hypotézu NMR potvrdil. Sašovi Jegorovovi se tehdy podařilo onen alkaloid zkrystalovat a dal ho na rentgen a ten odhalil omyl. Ten uhlík navíc byl na třetí pozici, byl tam *homo*-isoleucin – inu houby rády chemiky překvapí obskurními metabolity. Petra tehdy ten omyl velmi mrzel. Samozřejmě, že ihned dodělal chybějící experimenty a potvrdil strukturu z rentgenu. A pro příště byl mnohem opatrnější při potvrzování „logických“ řešení. Věřím, že Petr by se na mě nezlobil za publikování tohoto omylu. Ostatně, chybovat je lidské a dokonalého analytika Petra Sedmeru tento omyl „zlidšťuje“.

V následujících letech jsme naši spolupráci rozšířili i na další přírodní látky a výsledkem byly nové deriváty či analogy cyklosporinu, silybinu, paclitaxelu (a obecně taxany) a makrolidy odvozené od tacrolimu. Vždy, když jsme začínali s něčím novým, Petr prohlásil, „počkej, to jsem někde viděl“ a obvykle velmi rychle našel odkaz na příslušnou problematiku v literatuře.

Vedle izolací nových přírodních látek, které bylo možno publikovat, Petr zajišťoval naší firmě i jakousi vědeckou podporu výroby, tj. měření a interpretace spekter námi vyráběných látek a nečistot v těchto látkách se vyskytujících. Na tomto poli se významně zasloužil o úspěš-

ný vývoj jedné české firmy, dříve Galeny, později IVAXU a dnes TEVY.

Kromě lahvíček se vzorky izolovaných látek jsme občas Petra navštívili i se vzorkem poněkud větším – lahví whisky. Tu měl rád a rozuměl jí. Ocenil, když jsme někde sehnali něco, co u nás běžně nebylo. Velmi nás mrzí, že poslední láhev, kterou jsme mu koupili v minulém roce, už budeme muset vypít na Petrovu památku sami.

*Za kolegy a přátele z Galeny
Lad'a Cvak*

Ing. Jaromír Šňupárek, CSc. **(19. 1. 1915 – 14. 11. 2009)**

Jaromíra Šňupárka st. zná osobně už jen starší generace českých a slovenských chemiků, ale i mnozí mladší vědí o jeho významné roli při poválečné konsolidaci a budování výzkumu polymerních materiálů v Československu. Ti všichni litují toho, že už není mezi námi – odešel v listopadu minulého roku – krátce před svou pětadesátkou.

Jaromír Šňupárek se narodil 19. 1. 1915 v Prostějově. Jeho otec JUDr. Richard Šňupárek patří mezi významné osobnosti města Brna, po osvobození v roce 1918 pracoval po celé období mezi světovými válkami na brněnské radnici, ke konci tohoto období byl vrchním magistrátním ředitelem města Brna. Za okupace byl vězněn.

Jaromír, jeden z jeho pěti synů, vystudoval chemickou fakultu Vysoké školy technické Dr. E. Beneše v Brně, kterou ukončil v roce 1939. Po nástupu do zaměstnání ve Zbrojovce Brno a.s. byl v roce 1942 převeden do koncernového podniku UMA – výroba a zpracování umělých hmot v Praze, kde se zabýval studiem využití tehdy nových materiálů „umělých hmot“ pro potřeby Zbrojovky a začal tak pracovat v tehdy vznikajícím novém oboru – polymerní chemii a technologii.

Po skončení 2. světové války přešel v roce 1945 jako vedoucí útvaru Pryskyřice a zástupce šéfa závodu do UMA v Semtíně u Pardubic, kde se v dalších letech významně podílel na výstavbě tohoto nového podniku a na rozvoji tehdy mladého odvětví syntetických pryskyřic a plastických hmot. Se svými spolupracovníky tu zavedl

průmyslovou výrobu močovinných a fenolických technických pryskyřic Umacol, lisovacích hmot Umalur, technických vrstvených hmot Umacart, organického skla Umalex a jiných materiálů.

V roce 1955 přešel do Výzkumného ústavu syntetických pryskyřic a laků v Pardubicích, kde se opět věnoval praktické výzkumné činnosti. Jako vedoucí oddělení termoseť se svým kolektivem vyřešil a zavedl do výroby řadu nových technologií a materiálů, především lisovací fenoplasty, dekorační vrstvené hmoty Umakart D, lehčené hmoty Mofoterm, pojiva pro izolační hmoty z minerálních vláken a vyvinul technologii odfenolování odpadních vod. Významně se podílel i na výstavbě nové moderní budovy výzkumného ústavu a na koncepci a řízení výzkumné práce ve VÚSPL. Od roku 1965 byl jmenován prvním statutárním zástupcem ředitele a v letech 1968–1970 vykonával funkci ředitele ústavu. Vytvořil v ústavu nejlepší atmosféru předlistopadového období, žel jen na krátkou dobu a to do začátku normalizace.

Po odchodu do důchodu v roce 1979 po nějakou dobu pokračoval ve výzkumné práci ve VÚSPL. Od r. 1985 v podstatě sám, s minimálním technickým i personálním zázemím (v pronajaté laboratoři) pracoval na výzkumu a vývoji technologie výroby dnes dobře známé tuhé fenolformaldehydové pěny s vysokou nasákavostí pro floristiku Florex, kterou ve svých 72 letech úspěšně zavedl do výroby jako přidruženou chemickou výrobu JZD Svítkov – Staré Čivice u Pardubic.

Ing. Jaromír Šňupárek, CSc., je autorem a spoluautorem řady patentů z oboru výroby, zpracování a aplikace termosetových polymerů a pryskyřic. Je také spoluautorem knižních publikací Přehled plastických hmot, SNTL, 1959, který dosáhl několika vydání, a Aminoplasty, SNTL, 1963. Přednášel také na VŠCHT Pardubice obor technologie výroby polymerů a pryskyřic a byl členem redakční rady časopisu Plasty a kaučuk.

Jeho tvořivý duch a osobní příklad působil i doma. Vychoval a zasvětil polymerní chemii svého syna Jaromíra – prof. Ing. Jaromíra Šňupárka, DrSc. – známého českého vědce, profesora a dlouholetého vedoucího polymerních kateder a ústavů na Univerzitě Pardubice.

*Karel Dušek,
Ústav makromolekulární chemie AV ČR, Praha*

Výročí a jubilea

Jubilanti v 3. čtvrtletí 2010

85 let

Ing. Zdeněk Březík, (10.8.), SZÚ Praha

**Ing. Stanislav Brebera, (10.8.), VCHZ Synthesis
Pardubice**

**Ing. Jiří Skalský, (1.9.), Severočeské tukové závody
Lovosice**

**Doc. Dr. Tech. Ing. Karel Číž, DrSc., (10.9.), VUC a.s.
Praha**

80 let

Prof. Ing. Josef Pašek, DrSc., (11.7.), VŠCHT Praha

Prof. Ing. Pavel Pitter, DrSc., (13.7.), VŠCHT Praha

**Prof. Ing. Vladimír Kudrna, DrSc., (21.7.), VŠCHT
Praha**

Mgr. Josef Horáček, (23.7.), SZÚ Praha
RNDr. Josef Prouza, (19.8.), Kara Trutnov
Prof. Ing. Robert Holub, DrSc., (4.9.), Praha
Prof. Ing. Oskar Schmidt, CSc., (21.9.), VŠCHT Praha
Ing. Ludvík Koldovský, (26.9.), Praha

75 let

Ing. Milan Šolc, DrSc., (12.6.), ÚACH AV ČR Řež u Prahy
Ing. Karel Trefný, (22.8.), Tesla Lanškroun
Ing. Rostislav Ott, CSc., (3.9.), České závody gum. a plast. Zlín
RNDr. Miroslav Benátský, CSc., (12.9.), VŠB Ostrava
Ing. Eva Davidková, CSc., (14.9.), VÚPP Praha
Ing. Aleš Cee, CSc., VÚOS Pardubice
Prof. RNDr. Jiří Klinot, CSc., (23.9.), PřF UK Praha
Prof. Ing. Miloslav Rakovič, DrSc., (28.9.), 1. LF UK Praha

70 let

Ing. Anna Čechová, (10.7.), Praha
Prof. RNDr. Věra Pacáková, CSc., (31.7.), PřF UK Praha
Ing. Jiří Martínek, (5.9.), Framar Praha
Prof. Ing. František Liška, CSc., (24.9.), PedF UK Praha

65 let

Prof. Ing. Jiří Bilík, CSc., (1.7.), VŠB Ostrava
Prof. Dr. Jiří Klemeš, CSc., (6.7.), Brno
Mgr. Libuše Kašková, (21.7.), ZŠ Velké Přílepy

Prof. Ing. Jan Páca, DrSc., (20.8.), VŠCHT Praha
Prof. Ing. Ladislav Omelka, DrSc., (21.8.) VUT Brno
Doc. Ing. Bořivoj Fiala, CSc., (2.9.), Valašské Meziříčí
Ing. Milena Hauerová, (17.9.), FN Plzeň
Prof. Ing. Karel Kolář, CSc., (23.9.), PedF UK Hradec Králové

60 let

Ing. Michael Waldman, (8.7.), SZÚ Praha
Prof. RNDr. Jiří Příhoda, CSc., (7.8.), PřF MU Brno
Vít Matějů, (6.9.), Envisan Praha

*Blahopřejeme***Zemřelí členové Společnosti**

Ing. Petr Sedmera, MBÚ AV ČR Praha, zemřel 30. ledna 2010 ve věku 68 let.
Prof. Ing. Jiří Macák, DrSc., VŠCHT Praha, zemřel 13. února 2010 ve věku 82 let.
Doc. RNDr. Karel Čermín, CSc., Praha, zemřel 19. února 2010 ve věku nedožitých 95 let.
Ing. Jaromír Moravec, CSc., ÚJV Řež, zemřel 24. února 2010 ve věku 81 let.

Čest jejich památce



62. sjezd asociací českých a slovenských chemických společností

28. – 30. června 2010, Pardubice

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

62. sjezd asociací českých a slovenských chemických společností se koná při příležitosti oslav šedesátého výročí vysokého školství v Pardubicích pod záštitou děkana Fakulty chemicko-technologické.

Sekce sjezdu

- Anorganická chemie (včetně bioanorganické); garant: **I. Lukeš**
- Organická chemie (včetně bioorganické a farmaceutické); garant: **M. Sedlák**
- Analytická chemie (včetně bioanalytické); garant: **M. Holčapek**
- Fyzikální, teoretická a počítačová chemie; garant: **P. Čársky, M. Urban**
- Anorganické, kompozitní a polymerní materiály (včetně organických polymerů); garant: **Mir. Vlček, A. Kalendová**
- Přírodní látky (fitoceutika, biologická aktivita, fytofarmaka); garant: **V. Šimánek**
- Chemické vzdělávání, historie a popularizace chemie, garant: **H. Čtrnáctová**
- Průmyslová chemie (ChemProgres); garant: **J. Hanika**
- Potravinářská chemie (včetně doplňků stravy, nutraceutik); garant: **J. Královský**
- Nanotechnologie (nanomateriály a nanotechnologie materiálově-chemického směru) garant: **G. S. Martynková** (ve spolupráci s projektem OP VpK – „TEAM – CMV“)
- Termická analýza a kalorimetrie; garant: **P. Šulcová**
- Environmentální inženýrství; garant: **J. Chýlková**

Organizační výbor: předseda – T. Wágner, H. Pokorná, A. Vlková, R. Řápková, K. Ventura, P. Mikulášek, L. Svoboda, P. Kalenda, Mir. Vlček, R. Svoboda, V. Zima, A. Růžička, A. Komárková, L. Vařeková, M. Rolečková, B. Frumarová

Vědecký výbor: předseda – M. Frumar, J. Ulrichová, M. Drábik a odborní garanti jednotlivých sekcí

Předběžný program

Pondělí 28. 6. 2010

Registrace, ubytování (sjezdová kancelář recepce nové budovy Fakulty chemicko-technologické, Pardubice – Polabiny)

Slavnostní zahájení (Aula Arnošta z Pardubic, Univerzita Pardubice)

Plenární přednášející: prof. Dr. Michael Graetzel, Ecole Polytechnique Federale de Lausanne Laboratoire de Photonique et Interfaces, Lausanne, Švýcarsko

Koncert

Uvítací večer

Úterý 29. 6. 2010

Plenární přednášky

Přednášky v sekcích, minisymposia

Zahájení všech plakátových sdělení a výstavy (prostory nové budovy FCHT Pardubice – Polabiny), večer – raut s vyhlášením vítěze CENY SHIMADZU 2010

Středa 30. 6. 2010

Plenární přednášky

Přednášky v sekcích, minisymposia

Vyhlášení vítězů plakátových sdělení a „Wine, cheese and ginger bread party“

Čtvrtek 1. 7. 2010

Exkurze, výlety

Termíny:

řádná registrace do 21. března 2010

pozn.: abstrakt je nutno zaslat společně s registračním formulářem

Poplatky*:

účastník, člen**	4400,- Kč
účastník, nečlen**	5400,- Kč
student, člen**	3300,- Kč
student, nečlen**	4400,- Kč

* uvedené ceny jsou včetně DPH

** AČChS, ASChFS, SChS, ČSCh

pozn.: poplatek zahrnuje konferenční materiály, občerstvení a společenský program

Kontakty:

62.sjezd@upce.cz

tomas.wagner@upce.cz

miloslav.frumar@upce.cz

Veškeré aktuální informace najdete na internetové adrese: <http://sjezdCsSch2010.upce.cz>.

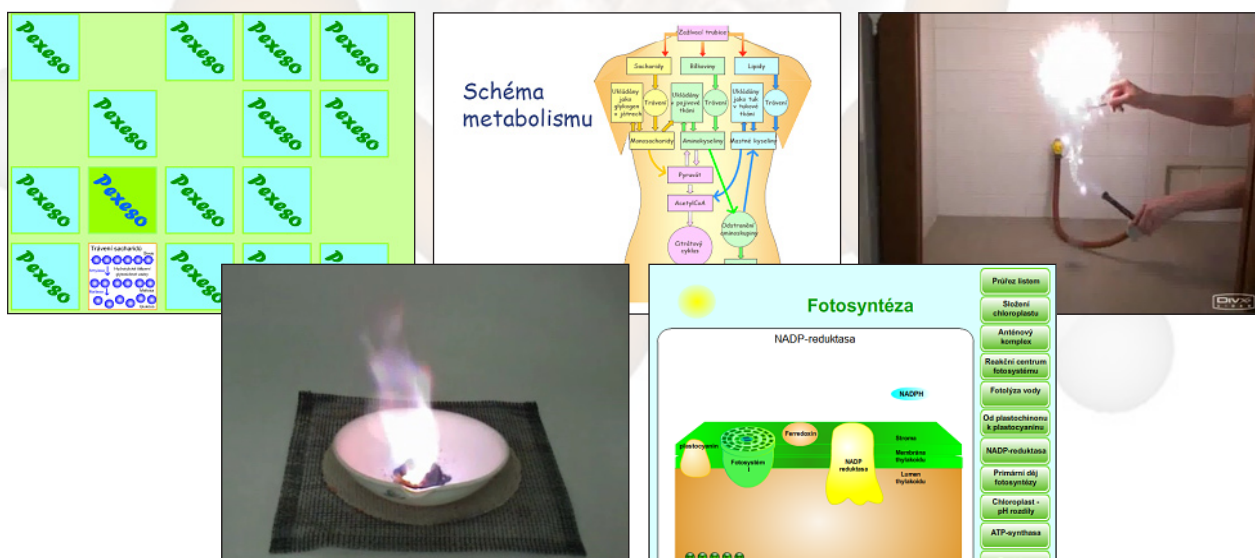


www.studiumchemie.cz
portál PŘF UK na podporu výuky chemie na ZŠ a SŠ

Portál www.studiumchemie.cz je podpůrným webem určeným pro středoškolské učitele chemie a jejich žáky. Web je naplněn vzdělávacími a výukovými materiály, které byly z převážné většiny vytvořeny na Katedře učitelství a didaktiky chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze.

Součástí webu jsou:

- » interaktivní didaktické hry
- » pracovní listy
- » videa chemických experimentů
- » kompletní i dílčí výukové a studijní materiály
- » metodická, odborná i technická podpora
- » odpovědná zvědavých dotazů
- » editor testů pro učitele
- » chemické online testy
- » a další



Web je dostupný ze tří adres:

www.studiumchemie.cz

www.natur.cuni.cz/studiumchemie

www.vyukachemie.cz

Nürnberg: Why your presence is so important

The organisation for the 3rd EuCheMS Chemistry Congress is on track and moving forward, with May 5 as the next milestone. This day marks the deadline for the submission of abstracts to be eligible for oral presentations, and it also marks the last chance to register at an attractive early fee. At 400 Euro for regular members of a EuCheMS member society, the price remains at the level of Torino 2008 and students will have to pay only half this amount.

In addition, more and more EuCheMS member societies will provide their younger scientists with travel grants and scholarships. For PhD students, postdocs and lecturers starting their career there are a lot of possibilities to sharpen their profile and to gain visibility within the scientific world. The European Younger Chemists Network has sponsored for the third time the European Young Chemist Award for researchers less than 35 years old. Finalists will compete talking about their research at a special session. The awards will consist of medals and monetary prizes sponsored by the Italian Chemical Society. Applications must be sent to euchem-award@scigiovani.it by May 5.

Reaxys, a web-based search and retrieval system for chemical compounds, bibliographic data and chemical reactions will award three prizes for research in organic, organometallic and inorganic chemistry for candidates currently studying for a PhD or having completed a PhD within the last twelve months. Three prize winners will present their research at a special symposium.

Students and postdocs striving for a career in the chemical industry will discover a lot of ways to establish contacts with possible employers – from a networking event like “Science meets Business” to the JobFair and hands-on seminars like CV clinic.

The core scientific programme with its seven main topics consists of 130 hours of



The Nürnberg Congress Center. (photo: Messe Nürnberg)

lectures touching on most relevant aspects of modern chemistry. Some EuCheMS divisions offer additional special symposia covering nuclear chemistry, chemical education and special topics in medicinal, organic and inorganic chemistry, life sciences and physical chemistry. Guest events focus on ethics in science and on the professional status of chemists. Research foundations will present ways how to participate in European scientific initiatives and programmes. Vendor seminars will present an opportunity for participants to gain a compact overview and to learn about new developments of major international chemical companies.

This picture would be incomplete without mention of the social programme, designed to help making friends by a number of common activities regardless of age and hierarchy. An organ recital at St Sebaldus will offer intellectual inspiration aside from chemistry, and the conference dinner “C₆₀-Party: Chemistry meets Soccer” in the easyCredit-Stadion will provide an unusual change of backdrop for conference attendees.

Last but not least, designated one of the top five most innovative areas of Germany, the metropolitan region of Nürnberg provides a stimulating environment for all participants of the EuCheMS Congress and the chance to enter into strategic partnerships.

*Gerhard Karger, g.karger@gdch.de
www.euchems-congress2010.org*

“Eastern Europe in the focus”

Three questions for François Diederich and Andreas Hirsch, Chairmen of the 3rd EuCheMS Chemistry Congress.

If you compare the EuCheMS Congress with other conferences – what's its impact?

The format of the EuCheMS congresses resembles that of the ACS meetings, with division symposia organised by eminent conveners, exhibition, career days, awards sessions. European chemistry needs a regular European meeting. It is like in sports. It is nice to have national meetings but the really fascinating events occur Europe-wide, with larger competition.

Will the scientific programme be attractive enough for chemists from industry?

Undoubtedly so! The megatrends and megatrends in industry and academia are the same: energy, food supply, resources and environment, new analytical methods and tools, new functional materials, new synthetic methods, catalysis etc. Industrial and academic research laboratories need to cooperate even closer together in the future to respond to these challenges. The fact that all scientific events are held under one roof in the excellent Congress center, ensures plenty of contact times.

The 4th EuCheMS Congress will be in Prague, only 250 km away from Nürnberg – is Eastern Europe especially in the focus?

It is important that Nürnberg is geographically right at the interface with the the new Central and Eastern European EU countries. Chemists from Poland, Czech Republic, Slovakia, Slovenia, or Hungary can attend easily by car. We hope for a large participation from Central and Eastern Europe and have tailored parts of the programme specifically for this audience. We hope to make a smooth transition to Prague 2012.

Full statement on www.gdch.de/taetigkeiten/nch/down/unvbei.htm



François Diederich



Andreas Hirsch



Travel grants to Nürnberg

To mark the occasion of the 3rd EuCheMS Chemistry Congress in Nürnberg the JungChemikerForum Frankfurt/Main (part of the Gesellschaft Deutscher Chemiker) will award ten travel grants each worth 250 Euro to young scientists from Central and Eastern Europe in order to strengthen and advance the European Young Chemists Network. Eligible to apply are Master or PhD students of chemistry or a chemistry-related degree programme in Central or Eastern Europe that actively participate in the conference with a poster or oral presentation. The deadline is 31 July 2010. Application and further request via e-mail at euchems2010@jcf-ffm.de. *al*
www.jungchemiker.de/stipendien

New ERC President

Fotis C. Kafatos stepped down from his position as President of the European Research Council (ERC) and Chairman of its Scientific Council on March 2010. He will continue as a member of the Scientific Council. Janez Potocnik, European Commissioner for Science and Research, thanked Kafatos for his outstanding contribution. On 19 February the ERC Scientific Council unanimously elected Helga Nowotny, an Austrian social scientist, as the new ERC President and chair of the Scientific Council. Nowotny was the ERC's vice-President and vice-chair of its Scientific Council. She took office on 1 March 2010. Kafatos was the first President of the European Research Council, the body set up by the EU in 2007 to enhance frontier research in Europe.

<http://erc.europa.eu>

Newsletter extra issue in July

GDCh's headquarter staff will prepare an extra issue of this newsletter to mark the occasion of the 3rd EuCheMS Chemistry Congress in Nürnberg. The issue will be published at the beginning of July, and the PDF-file will be available from the end of May. The organisational team encourages EuCheMS member societies to publish the additional issue in their local journals or on their web page. *ks*

EYCN Delegate Assembly



The 5th European Young Chemists Network (EYCN) Delegate Assembly gathered together young chemists in Untervaz, Switzerland, on February 17 to 19, 2010. The meeting preceded the Swiss Snow Symposium, organised by the Swiss Young Chemists' Association and co-organised by EYCN.

Attendance at the assembly was high: over 20 member societies were represented. In addition, Michael Hurrey from the American Chemical Society attended as a special guest and gave a talk on the opportunities of exchange between European and American young chemists.

In the meeting, the EYCN contributions to the coming 3rd EuCheMS Chemistry Con-

gress and to the events during the International Year of Chemistry 2011 were discussed and developed. The discussion was chaired by Alexandra Schwarz (Evonik Industries) and David Ward (Ward Consulting).

In addition to the decisions made about future events, the Delegate Assembly was an opportunity for the representatives to work together and to forge even stronger alignment and cohesion around the aims of the EYCN, its contribution to its membership and its role in the broader world of chemistry.

Dan Dumitrescu
dan.dumitrescu@gmail.com

Eurasia Conference on Chemical Sciences in Jordan

Jordan has been chosen to host the 11th International Eurasia Conference on Chemical Sciences which is organised by the University of Jordan (www.ju.edu.jo) and the Middle East Science Fund (www.mesfund.org). It will be held under the patronage of His Majesty King Abdullah II in the period 6 to 10 October 2010 at the Dead Sea, the lowest point on earth. Participants include twelve Nobel Laureates in chemistry and medicine, together with about hundred invitees, in addition to about 500 researchers and graduate students from all over the world. The program will include several workshops and panel discussions in addition to plenary, key-note, invited lectures and posters. One main goal of the confer-

ence is to link invited well-established figures with young scientists and graduate students from the region for the purpose of mutual cooperation.

The series of International Eurasia Conferences was established in 1986 by a group of respectable chemists, Hitoshi Ohtaki (Japan), Bernd Rode (Austria) and Ivano Bertini (Italy). A world-top conference is held every two years in a Eurasia country with the aim of strengthening relationships between young researchers in developing countries and eminent world-known chemists, including Nobel Laureates. The conference is sponsored by EuCheMS.

Amal Al-Aboudi, alaboudi@ju.edu.jo
www.euasc2s-11.ju.edu.jo

The good tradition of young chemists meetings

Today conferences for young chemists are frequently held in different countries. Despite the often controversial discussion of whether there is a real distinction between “young” and “old” chemistry or if whether young colleagues even like this kind of segregation, we should understand that it may be a very important and useful experience for professional chemists at the beginning of their career. Young chemists who organise a conference gain valuable experience which helps them in their future career.

The first young chemists meeting took place at the Bechyne Castle, belonging at that time to the Czechoslovak Academy of Sciences, in September 1980. Almost 100 young chemists from Eastern Europe and Egypt had (for some) the first experience of international conferences. The Bechyne Conference was followed by a series of meetings of this kind organised in Puschchino na Oke, Liblice, Sofia, Berlin etc., later allowing chemists from the Federal Republic of Germany as the first ones “from behind the curtain”.

Nowadays the former participants of these meetings are heads of departments, deans, vice-rectors, textbook writers, editors etc., and in any case, good chemists working around the world, from Seattle to Moscow. And many became friends, collaborating and exchanging students. We wish young chemists good luck, a lot of excellent results and good opportunity to present them in future conferences.

*Henryk Koroniak, Vladimir Khripach and
Pavel Drašar
Pavel.Drasar@vscht.cz*



*30 years ago in former Czechoslovakia:
The first conference for young chemists.*

Macro2010 in Glasgow

Organised by the RSC and co-sponsored by EuCheMS, Macro2010 on 11 to 16 July in Glasgow is the latest in the series of biennial meetings of the IUPAC Polymer Division. The series has been running for several decades and is the largest international multi-symposium conference dedicated to all aspects of polymer science and engineering. Macro2010 will have an overall focus on polymer science in the service of society. The programme contains 28 symposia. Particular importance is placed on the poster sessions, which will occupy a prominent position in the timetable. Members of EuCheMS member societies are eligible to register at a discounted rate. Early bird registration deadline is 14 May, standard deadline is 11 June. *eme/ks*
www.macro2010.org/cfp

Congratulations to Hungary

One of the most successful media of the Hungarian Chemical Society is the Hungarian Chemical Journal. The journal, originally titled as “Magyar Chemikusok Lapja”, was first published on 15 January 1910 and initially appeared biweekly. It served as an official communication channel for the members of the Society. Ever since then, the journal has continued to provide the latest scientific and technical information to members, besides publishing complete manuscripts on hot topics in chemistry, chemical education, and chemical industry. We wish at least 100 more successful years to the journal, and congratulate the editorial board, currently led by Tamás Kiss and János Szépvölgyi.

Agota Toth, atoth@chem.u-szeged.hu

Two into one: New European education network

The European Chemistry and Chemical Engineering Education Network (EC2E2N) was created by fusion of the European Chemistry Thematic Network (ECTN) and the European Chemical Engineering Education Network (ECEEN). The new network brings together 120 partners from 27 European countries. Funding is provided by the European Commission under the Erasmus project with respect to the Lifelong Learning programme to bring together participants in higher education in chemistry and chemical engineering. Partners in the network are schools, universities, industries, national chemical societies, and accreditation bodies in this new network, as well as EuCheMS and the European Chemical Industry Council Cefic. The goals of EC2E2N are:

- to support innovative ICT-based products by developing a virtual campus with online language courses, material for lecturers and tests, including a training course for generic skills for third cycle students.
- to promote entrepreneurship with a curriculum for entrepreneurial skills and tools for a network of entrepreneurs.
- to facilitate the comparability of degree programmes across Europe by creating a EuroLecturer qualification, a database of programmes, a common framework for chemistry teacher training, and by developing European quality labels for these programmes as well as teaching and training materials for teachers and pupils.
- to increase the attractiveness of studies in chemistry and chemical engineering by focussing on sustainability and identifying examples of best practice. The network will also provide student-centred activities such as summer schools and contests.
- to enhance the interaction between chemists and chemical engineers in academia, and increase the employability of graduates in those fields.

Pavel.Drasar, Pavel.Drasar@vscht.cz
www.ectn-assoc.org, <http://eceed-assoc.cpe.fr>

Lund: European Conference on Computational Chemistry

The Division on Computational Chemistry of EuCheMS together with the Swedish Chemical Society and Lund University are organising the 8th European Conference on Computational Chemistry (EUCCO-CC8). The conference takes place on August 25 to 28 in the city of Lund, located in the southernmost part of Sweden. The conference will cover research in all areas of computational chemistry. A number of invited lecturers will highlight the latest advances in materials chemistry, soft matter, biological chemistry, photochemistry and photobiology, homogenous catalysis and computational chemistry on alternative platforms. The speakers are leading scientists from Europe and the US. In addition, there is room for a large number of contributed talks and poster presentations. The EUCCO-CC8 is a satellite conference to the 3rd EuCheMS Chemistry Congress in Nürnberg and travelling information for those who wish to participate in both events can be found on the EUCCO-CC8 web page.

Tore Brinck, tore@physchem.kth.se
www.chemsoc.se/sidor/KK/8thECCC

Budapest: International Congress on Pigments in Food

The 6th International Congress on Pigments in Food will be held in Budapest, Hungary on June 20 to 24. The major aim of the Congress is to facilitate discussions between scientists from both academic and industrial areas on various aspects of food pigments. Hot topics, like chemical analysis, food safety and authenticity, or various food processing, food technology and biotechnology, will be covered in invited keynote and short oral lectures along with poster presentations. AT

www.foodpigments2010.mke.org.hu



Events

6 – 10 June 2010, Belgrade, Serbia

Second Regional Symposium on Electrochemistry (South-East), <http://rse-see.net>

7 – 11 June 2010, Stockholm, Sweden

FORMULA VI, www.chemsoc.se/sidor/KK/formulaVI

13 – 16 June 2010, Oviedo, Spain

7th International Congress of ANQUE: Integral Water Cycle: Present and Future, www.anque2010.org

20 – 24 June 2010, Budapest, Hungary

Pigments in Food: Chemical, Biological and Technological Aspects, www.foodpigments2010.mke.org.hu

28 June – 2 July 2010, Bologna, Italy

EUICHEM Conference on Organic Free Radicals, www.isof.cnr.it/biofreeradicals/EuChem.html

30 June – 3 July 2010, Ravenna, Italy

Chemistry for Cultural Heritage (CHEMCH), www.chemch.unibo.it

4 – 9 July 2010, Kraków, Poland

10th European Conference on Research in Chemistry Education (ECRICE), <http://ecrice2010.ap.krakow.pl>

11 – 15 July 2010, Perugia, Italy

International Symposium Perugia Fluorine Days (PFD 2010), www.perugiafluorinedays.it

11 – 16 July 2010, Glasgow, UK

43rd IUPAC World Polymer Congress (Macro 2010), www.macro2010.org

25 – 28 August 2010, Lund, Sweden

8th European Conference on Computational Chemistry, www.chemsoc.se/sidor/KK/8thECCC

29 August – 2 September 2010, Nürnberg, Germany

3rd EuCheMS Chemistry Congress: Chemistry – the Creative Force, www.euchems-congress2010.org

19 – 23 September 2010, Gdansk, Poland

15th International Conference on Heavy Metals in the Environment (ICHMET), www.pg.gda.pl/chem/ichmet

6 – 10 October 2010, The Dead Sea, Jordan

11th Eurasia Conference in Chemical Sciences, www.euasc25-11.ju.edu.jo

50th anniversary of Nobel Prize for polarography

On the 10th December 1959 Jaroslav Heyrovský received the Nobel Prize “for his discovery of the polarographic method of analysis” from the hands of King of Sweden Gustav Adolph VI. To commemorate this event, an international conference on modern Electroanalytical Methods was held from 9 to 14 December 2009 in Prague, in the same building where Heyrovský invented the method of polarography. The conference was organised by the Czech Chemical Society in cooperation with the Faculty of Science of the Charles University in Prague and the J. Heyrovský Institute of Physical Chemistry of the Czech Academy of

Sciences, the International Society of Electrochemistry and the European Society for Electroanalytical Chemistry.

Nearly 100 participants from 20 countries paid tribute to the outstanding personality of Heyrovský. The present state and future possibilities of a number of modern analytical methods developed from polarography were presented in 50 oral presentations and 50 posters. Several students of Jaroslav Heyrovský were among the participants.

Jirí Barek, Pavel Drašar and Karel Nesmerák
Pavel.Drasar@vscht.cz

EuCheMS Newsletter



Newsletter coordinator: Karin Schmitz

Please send all correspondence and manuscripts to k.schmitz@gdch.de

Editors: Wolfram Koch (responsible), Uta Neubauer, Frankfurt am Main

Advisory board: Wolfram Koch (Chair, Germany), Luis Oro (Spain), Giovanni Natile (Italy), Evelyn McEwan (EuCheMS Secretariat), Marie-Claude Vitorge (France), Paola Turano (Italy), Viktor Milata (Slovakia).

Layout: Jürgen Bugler, Frankfurt am Main

Production: *Nachrichten aus der Chemie*

Publisher: Gesellschaft Deutscher

Chemiker on behalf of EuCheMS
 Postfach 900440, D-60444 Frankfurt am Main
euchems@gdch.de

EuCheMS General Secretary:

Evelyn McEwan, c/o RSC, Burlington House, Piccadilly, London W1J 0BA, UK
secretariat@euchems.org
www.euchems.org

EuCheMS is registered as “Association internationale sans but lucratif” (AISBL, international non-profit association)

AISBL-Registered office: Avenue E. Van Nieuwenhuyse 4, B-1160 Brussels

OBSAH		CONTENTS	
ÚVODNÍK	213	EDITORIAL	213
REFERÁTY		REVIEW ARTICLES	
Využití afinitní chromatografie pro studium působení vybraných oxysterolů u rostlin	215	Affinity Chromatography as a Method of Studying the Mechanism of Action of Plant Oxysterols	215
M. Kamlar, O. Uhlík, I. Chlubnová, L. Kohout, J. Harmatha, M. Šanda, R. Ježek, A. Pišvejcová a T. Macek		M. Kamlar, O. Uhlík, I. Chlubnová, L. Kohout, J. Harmatha, M. Šanda, R. Ježek, A. Pišvejcová, and T. Macek	
Možnosti kombinácie metód kvapalinovej chromatografie a atómovej spektrometrie na špeciáciu prvkov	223	Combination of Liquid Chromatography and Atomic Spectrometry for Speciation of Elements	223
R. Halko, T. Neuročný a M. Hutta		R. Halko, T. Neuročný, and M. Hutta	
LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY		LABORATORY EQUIPMENT AND METHODS	
Limitovaná a pulzní proteolýza lidského hemoglobinu	232	Limited and Pulse Proteolysis of Human Hemoglobin	232
V. Jurga a M. Kodíček		V. Jurga and M. Kodíček	
Polysacharidové komplexy dřevních hub rodu <i>Phellinus</i> a <i>Inonotus</i>	236	Structural Investigation of Glucan Complexes Isolated from <i>Phellinus</i> and <i>Inonotus</i> Wood Fungi	236
M. Novák, A. Synytsya, A. Veselá, G. K. Gomba a J. Čopíková		M. Novák, A. Synytsya, A. Veselá, G. K. Gomba, and J. Čopíková	
Príprava a využitie kombinovaných adsorbentov na zeolitovej báze pri odstraňovaní oxyaniónových polutantov z vôd	243	Development and Exploitation of Combined Zeolite Adsorbents for Removing Oxyanions from Water	243
L. Sabová, E. Chmielewská a K. Gáplovská		L. Sabová, E. Chmielewská, and K. Gáplovská	
Stanovení metanefrinu a normetanefrinu v krevní plazmě pomocí HPLC s elektrochemickou detekcí	251	Determination of Metanephrine and Normetanephrine in Blood Plasma by HPLC with Electrochemical Detection	251
A. Vránková, T. Škrámlíková, J. Widimský Jr., T. Zelinka, O. Petrák, R. Holaj, B. Štrauch, J. Rosa, J. Škrha, and Z. Jůzová		A. Vránková, T. Škrámlíková, J. Widimský Jr., T. Zelinka, O. Petrák, R. Holaj, B. Štrauch, J. Rosa, J. Škrha, and Z. Jůzová	
Sledovanie vplyvu posypových solí na procesy v aktivačnej nádrži	257	Influence of Road Salts on the Processes in Activation Tanks of Wastewater Plants	257
E. Horniaková, T. Bakalár a M. Búgel		E. Horniaková, T. Bakalár, and M. Búgel	
CHEMICKÝ PRŮMYSL		CHEMICAL INDUSTRY	
Materiálové technologie	261	Material Technologies	261
A. Mlčoch		A. Mlčoch	
RECENZE	263	BOOK REVIEWS	263

BULLETIN ČESKÝCH CHEMICKÝCH SPOLEČNOSTÍ

Paliva a maziva v počátcích automobilismu J. Černý	269
Člověk a věda J. Šesták	277
Ze života chemických společností	280
Anglické okénko, horké novinky z chemie	280
Akce v ČR a v zahraničí	281
Odborná setkání	282
Zákony, které ovlivní život chemiků	284
Zprávy	286
Diskuse	286
Osobní zprávy	288
Výročí a jubilea	291

BULLETIN OF THE CZECH CHEMICAL SOCIETIES

Fuels and Motor Oils at the Early Stages of Automotive Industry J. Černý	269
Man and Science J. Šesták	277
From the Chemical Societies	280
English Column, Hot News from Chemistry	280
Meetings Calendar	281
Meetings and Conferences	282
Laws that could Influence Life of Chemists	284
News	286
Discussion	286
Personal News	288
Anniversaries and Jubilees	291

CHEMICKÉ LISTY • ročník/volume 104 (2010), čís./no. 4 • LISTY CHEMICKÉ, roč./vol. 134, ČASOPIS PRO PRŮMYSL CHEMICKÝ, roč./vol. 120 • ISSN 0009-2770, ISSN 1213-7103 (e-verze) • evidenční číslo MK ČR E 321 • Vydává Česká společnost chemická jako časopis Asociace českých chemických společností ve spolupráci s VŠCHT Praha, s ČSPCH a ÚOCHB AV ČR za finanční podpory Nadace Český literární fond a kolektivních členů ČSCH • IČO 444715 • Published by the Czech Chemical Society • VEDOUCÍ REDAKTOR/EDITOR-IN-CHIEF: B. Kratochvíl • REDAKTOŘI/ EDITORS: J. Barek, Z. Bělohav, P. Drašar, J. Hetflejš, P. Holý, J. Horák, P. Chuchvalec, J. Podešva, P. Rauch, J. Volke; Bulletin: I. Valterová; Webové stránky: R. Liboska, P. Zámstný • ZAHRANIČNÍ A OBLASTNÍ REDAKTOŘI/ FOREIGN AND REGIONAL EDITORS: F. Švec (USA), L. Opletal (Hradec Králové), P. Tarkowski (Olomouc), Z. Kolská (Ústí nad Labem) • KONZULTANT/CONSULTANT: J. Kahovec • VÝKONNÁ REDAKTORKA/EDITORIAL ASSISTANT: R. Řápková • REDAKČNÍ RADA/ADVISORY BOARD: M. Černá, L. Červený, E. Dibuszová, J. Hanika, Z. Havlas, I. Kadlecová, J. Káš, M. Koman, J. Koubek, T. Míšek, J. Pacák, V. Pačes, O. Paleta, V. Růžička, I. Stibor, V. Šimánek, R. Zahradník • ADRESA PRO ZASÍLÁNÍ PŘÍSPĚVKŮ/MANUSCRIPTS IN CZECH, SLOVAK OR ENGLISH CAN BE SENT TO: Chemické listy, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel./phone +420 221 082 370, fax +420 222 220 184, e-mail: chem.listy@csvts.cz • INFORMACE O PŘEDPLATNÉM, OBJEDNÁVKY, PRODEJ JEDNOTLIVÝCH ČÍSEL A INZERCE/INFORMATION ADS: Sekretariát ČSCH, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel/fax +420 222 220 184, e-mail: chem.spol@csvts.cz, chem.ekonom@csvts.cz • PLNÁ VERZE NA INTERNETU/FULL VERSION ON URL: <http://www.chemicke-listy.cz> • TISK: Rodomax s.r.o., Rezecká 1164, 549 01 Nové Město nad Metují; SAZBA, ZLOM: ČSCH, Chemické listy • Copyright © 2010 Chemické listy/Česká společnost chemická • Cena výtisku 170 Kč, roční plné předplatné 2009 (12 čísel) 1730 Kč, individuální členské předplatné pro členy ČSCH 865 Kč. Roční předplatné ve Slovenské republice 92 EUR (doručování via SCHS), individuální členské předplatné pro členy ČSCH 70 EUR (doručování via SCHS), 258 EUR (individuální doručování), ceny jsou uvedeny včetně DPH • DISTRIBUTION ABROAD: KUBÓN & SAGNER, POB 34 01 08, D-80328 Munich, FRG; Annual subscription for 2008 (12 issues) 225 EUR • This journal has been registered with the Copyright Clearance Center, 2322 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923, USA, where the consent and conditions can be obtained for copying the articles for personal or internal use • Pokyny pro autory najdete v čísle 1/2002 a na internetu, zkratky časopisů v čísle 10/97 na str. 911 • Chemické listy obsahující Bulletin jsou zasílány zdarma všem individuálním a kolektivním členům ČSCH a ČSPCH v ČR i zahraničí, do všech relevantních knihoven v ČR a významným představitelům české chemie a chemického průmyslu; v rámci dohod o spolupráci i členům dalších odborných společností • Molekulární námět na obálce: P. Holý • Dáno do tisku 29.3.2010.