

## Výzkumem a vývojem k prosperitě Česka? Ano, ale jak

Ve svém inauguračním projevu v lednu 1961 pronesl nově zvolený prezident John Fitzgerald Kennedy od té doby často citovanou větu: „Do not ask what your country can do for you, ask what you can do for your country.“ Tato věta ve zkratce výstižně formulovala fakt, že svoji zemi si budujeme sami a že k ní máme povinnosti.

Dovolím si tuto myšlenku přeformulovat pro pracovníky v českém výzkumu a vývoji: „Neptejte se, co může naše země dělat pro podporu výzkumu a vývoje; ptejte se, co vy můžete dělat pro rozvoj naší země.“

Ti z nás, kdo pracují ve výzkumu a vývoji, mohou pro naši zemi udělat opravdu hodně. Při rozhodování o výzkumu a vývoji se však musíme zbavit nejnebezpečnějšího mýtu, že čím více peněz „dáme“ na výzkum a vývoj, tím více bude naše společnost prosperovat. Tato korelace neexistuje ani v průmyslu, natož pak v celé společnosti, kde už prosperitu v závislosti na výzkumu a vývoji vůbec měřit nelze. Nepoužitelný výzkum bohatství země netvoří, ale spotřebovává.

Jeden z hlavních problémů vidím v tom, že o podpoře výzkumu a vývoje často píšou, ale i rozhodují lidé, kteří sami nikdy nebyli v situaci, kdy museli a mohli rozhodovat, na čem ve výzkumu a vývoji pracovat, a byli schopni objektivně měřit výsledky svých rozhodnutí a jejich dopad na společnost. Chci tedy využít tuto příležitost a apelovat na vás, čtenáře Chemických listů, a hlavně na ty z vás, kteří rozhodujete o zaměření výzkumných a vývojových programů, abyste byli až brutálně upřímní sami k sobě, ale též ke svým spolupracovníkům, a abyste se vždy tázali: „Kdo z těchto výsledků výzkumu a vývoje bude mít prospěch?“

A nyní abych honem začal vysvětlovat. Vůbec totiž nesnižuji význam základního výzkumu na univerzitách či Akademii věd. Je naprosto nutný. K čemu? Zjednodušeně, ale věřím že výstižně lze říci, že hlavně k výchově nových vědeckých pracovníků, kteří získají znalosti naprosto nutné k tomu, aby vůbec mohli (pokud budou chtít) dělat aplikovaný výzkum s přímým pozitivním finančním dopadem na svou organizaci a na naši zemi.

Vím velice dobře, že i výsledky základního výzkumu mohou mít a občas i mají dalekosáhlý komerční dopad, a že všechny přelomové inovace jsou založeny na základním výzkumu. Jenže ty jsou již definičně nepředvídatelné, a tak není možné takt zdůvodňovat nutnost ani užitečnost základního výzkumu pro naši zemi.

Zcela tedy stačí, když se v základním výzkumu zaměříme primárně na výchovu budoucích špičkových vědeckých pracovníků. Umožňujme jim pobyty v zahraničí. Jak jsou dobří poznáme podle toho, kam budou přijati. Jestliže se

váš doktorand dostane po dokončení studií na světové špičkové pracoviště, znamená to, že vy jste vynikající vědec, když jste ho tak dobře připravil(a). Váš citační index to asi potvrdí, ale možná ne. Tak jako úspěch manažera výzkumu a vývoje v průmyslu se měří finančním dopadem výsledků výzkumu a vývoje na firmu, tak úspěch učitelů a školitelů lze měřit úspěchy jejich studentů. To je totiž jejich hlavní produkt.

A že se z pobytu v zahraničí možná nikdy nevrátí? Naše chyba, když jim nebudeme schopni nabídnout podmínky pro to, aby byli úspěšní u nás doma v Česku. Ti nejlepší se patrně vrátí s vlastními penězi a s kontakty na získávání dalších peněz z různých fondů, a to nejen fondů z Evropské unie. A co na tom, když si takto zajistí několikanásobně vyšší příjem, než je „normální“ v Česku? Když jim totiž na ty peníze sáhneme a oni se budou muset v rámci tzv. sociální soudržnosti o tyto peníze dělit s jinými, prostě zase brzy odejdou a již se nevrátí. Můj nevědecký odhad je, že v Českém průmyslu je přibližně stejná práce dělaná za tzv. „cizí peníze“ placená dvojnásobně v porovnání s prací za peníze české.

Ještě jeden apel. Prosim nepovažujme aplikovatelný výzkum za cosi druhořadého. Špičkoví vědci byli často ti první, kdo rozpoznali, jak bude možno výsledky jejich základního výzkumu komerčně aplikovat a na svém výzkumném tématu pokračovali v práci až do jeho komerční aplikace (využití). Špičkoví profesori, se kterými jsem měl tu čest jednat během svých 32 let v Kanadě a USA, udržovali vždy přímé kontakty s průmyslem, měli velký zájem pracovat na problémech, které průmysl zajímaly, a rozhodně to nepovažovali za ponížující. Vždyť také za to byli výborně odměňováni. Prodávat své znalosti a schopnosti není nic špatného a za vynikající znalosti je možné žádat vynikající odměny.

Čí je to ale chyba, jestliže nikdo nemá zájem o výsledky naší práce, ať jsou to již znalosti nebo produkty nebo studenti? Co tedy vlastně děláme pro svoji zemi a co jí nabízíme, když to nikdo nechce?

S Kennedym jsem začal a s Kennedym končím. „Ask what you can do for your country“.

Vždyť je to vlastně jednoduché. Vybrat si správná témata, která budou pro tuto zemi přínosem, a odvést kvalitní práci. Je to stejně jednoduché jako běžet maraton za 2 hodiny 11 minut. Rozběhnout se rychlostí 5 minut na míli a pokračovat tím tempem 26 mil. Jednoduché však vůbec neznamená snadné.

Martin Navrátil

<sup>1</sup> Booz Allen Hamilton Survey of Global Innovation 1000 (1999)

## CUKERNÁ NESACHAROSOVÁ SLADIDLA A PŘÍBUZNÉ LÁTKY

JANA ČOPIKOVÁ<sup>a</sup>, OLDŘICH LAPČÍK<sup>b</sup>,  
MICHAL UHER<sup>c</sup>, JITKA MORAVCOVÁ<sup>b</sup>  
a PAVEL DRAŠAR<sup>b,d</sup>

<sup>a</sup> Ústav chemie a technologie sacharidů, FBPT, VŠCHT, Technická 5, 166 28 Praha 6, <sup>b</sup> Ústav chemie přírodních látek, FBPT, VŠCHT, Technická 5, 166 28 Praha 6, <sup>c</sup> Fakulta chemické a potravinářské technologie, STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, <sup>d</sup> Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6

Došlo 14.3.06, přijato 3.5.06.

Klíčová slova: sladidlo, přírodní sladidlo, přídavná látka, obnovitelné zdroje

### Obsah

1. Úvod
2. Přírodní sladidla podle české legislativy
3. Alditoly
4. Fruktany a fruktooligosacharidy
5. Invertní cukr a med
6. Nový produkt se sladkou chutí – Shugr
7. Závěr

### 1. Úvod

V článku používaný termín „sladidlo“ se váže na látku komerčně (a legálně) používané jako potraviny a pomocné nebo přídavné látky. Typickým zástupcem je sacharosa, pro kterou známe legislativní a obchodní termín cukr bílý a která je důležitou potravinářskou a průmyslovou surovinou a zároveň i potravinou. Sacharosa dodává potravinám příjemnou sladkou chuť, na kterou jsme zvyklí, je součástí hmoty potravin, přispívá k jejich energetické hodnotě a při potravinářských nebo kulinářských procesech podléhá hydrolyze, karamelizaci a Maillardově reakci. Produkty těchto reakcí přispívají k vůni, barvě a chuti potravin.

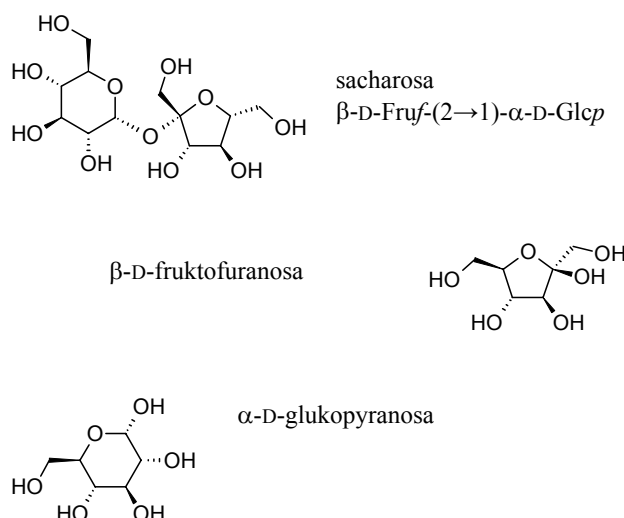
Sacharosa má dlouhou historii; její hlavní rozvoj však nastal díky pěstování třtiny (*Saccharum officinarum* L.) v Americe, z níž se do Evropy dovážel hlavně surový cukr, který byl zde dále rafinován. Během blokády přístavů za napoleonských válek se v Evropě rozšířilo pěstování cukrové řepy (*Beta vulgaris* L.), a tím se sacharosa začala po celé Evropě<sup>1</sup> vyrábět z řepy. Cukr bílý je komodita, se kterou se obchoduje na burze, a ročně se ho vyrobí kolem

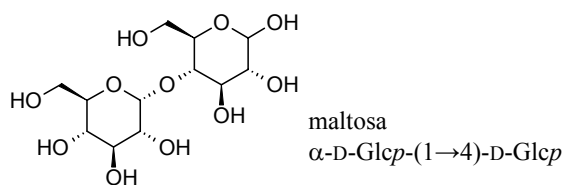
144 milionů tun a jen malá část slouží jako chemická surovina<sup>2</sup>. Spotřeba cukru se ve vyspělých zemích pohybuje od 30 do 50 kg na osobu ročně<sup>1</sup> a v České republice kolísá kolem 40 kg na osobu a rok, což je jedna z nejvyšších spotřeb v Evropě<sup>2</sup>. V Evropské unii má být výroba cukru od 1. července 2006 regulována<sup>3</sup>.

Sacharosa je v potravinách nahrazována v podstatě ze tří důvodů, zaprvé je to snaha snižovat energetickou hodnotu potravin, zadruhé snaha vyhovět požadavkům na dostupnost potravin, které nezpůsobují kazivost zubů<sup>4</sup>, a zatřetí, což je skutečně důležité, potřeba zásobovat trh potravinami vhodnými pro diabetiky. Protože složení neboli receptury potravinářských výrobků a doma připravených potravin obsahujících sacharosu mají více jak dvousetletou tradici, nelze sacharosu vždy jednoduše nahradit. Složitost tohoto úkolu může být ilustrována například na rozdílech v chuti a trznicích úspěšných těchto značek nealkoholických nápojů, které však jsou vyráběny v různých oblastech, kde se liší cena a dostupnost jiných průmyslových sladidel.

### 2. Přírodní sladidla podle české legislativy

Podle legislativy České republiky<sup>5</sup> se „druh přírodní sladidla“ dělí do tří skupin, mezi které patří např. cukr extra bílý, bílý a polobílý, tekuté výrobky z cukru, a samostatnou třetí skupinu tvoří „dextróza, fruktóza a glukózový sirup“. Dextróza je D-glukosa; glukosový sirup, v české odborné literatuře nazývaný škrobový sirup, je produkt částečné kyselá hydrolyzy škrobu. Škrobový sirup obsahuje 20 % D-glukosy vedle řady jejích oligomerů. Při výrobě potravin se uplatňuje další produkt, získaný enzymovou hydrolyzou škrobu, obsahující téměř 50 % maltosy; má nízký obsah D-glukosy a zbytek sušiny tvoří oligomery





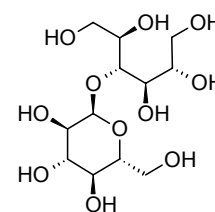
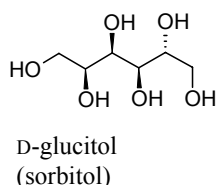
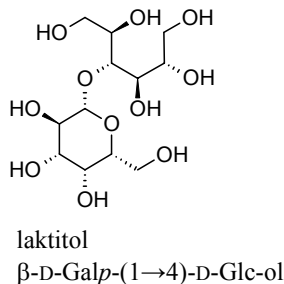
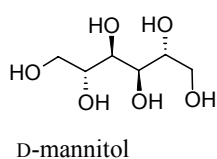
D-glukosy. Tento produkt se nazývá maltosový sirup. Oba komerční produkty jsou dodávány s obsahem 80 % sušiny. Pokud glukosový sirup obsahuje více než 5 % D-fruktosy, je dle legislativy označován jako glukózo-fruktózový sirup. Mezi přírodní sladidla v české legislativě není zahrnuta isoglukosa, což je sladidlo, které se vyrábí enzymovou isomerací D-glukosy vzniklé hydrolyzou škrobu<sup>6</sup>. Isomerací D-glukosy se získá produkt, který může obsahovat 42 až 55 % D-fruktosy. Isoglukosa s obsahem D-fruktosy 42 % má stejnou sladivost jako sacharosa. Produkt se sušinou kolem 80 % podléhá stejným regulačním pravidlům jako cukr<sup>7,8</sup>.

### 3. Alditoly

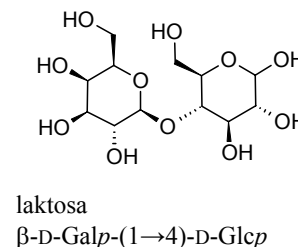
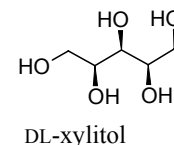
Vyhláška č.431/2005 ze sbírky zákonů, částka 148, určuje přídatné látky, které se mohou při výrobě potravin používat<sup>9</sup>. Mezi tyto přídatné látky patří také alditoly, které v určitých případech mohou nahrazovat přírodní sladidla. Jsou to D-glucitol (nazývaný též v praxi sorbitol, sorbit a sorbitolový sirup; E 420), D-mannitol (E 421), isomalt (E953), maltitol a maltitolový sirup (E 965), laktitol (E 966) a DL-xylitol (E 967). Podle vyčerpávající zprávy komise BCC C-230 z roku 2000/2001 se ve světě vyrábí kolem 1,4 milionů tun polyolů, D-glucitol tvoří 48 % výroby, DL-xylitol 12 %, D-mannitol 11 % a maltitol 10 % (cit.<sup>10,11</sup>).

Z přehledu fyzikálních vlastností legislativou povolených alditolů (tab. I) vyplývá, že jejich sladivost je většinou nižší ve srovnání se sacharosou. Dále mají vyšší endotermní rozpouštěcí entalpii, což při požití vyvolává chladivý pocit v ústech. Z hlediska technologického je důležité, že roztoky alditolů mají ve srovnání s roztoky sacharosy při stejné koncentraci vyšší bod varu a z hlediska zdravotního je důležité, že mají laxativní účinky a nejsou kariogenní. Alditoly jsou v lidském těle fermentovány v tlustém střevě, kdy vznikají nižší mastné kyseliny, a tudíž mají určitou nízkou energetickou hodnotu.

Všechny uvedené alditoly se vyrábějí průmyslově katalytickou redukcí příslušné aldosa, případně ketosa. Surovinou pro D-glucitol a maltitol je hydrolyzát škrobu



maltitol  
 $\alpha$ -D-Glcp-(1→4)-D-Glc-ol



nebo sacharosy. Hydrolyzou sacharosy vzniká ekvimolární směs D-glukosy a D-fruktosy<sup>10,11</sup>. Tyto monosacharidy je možné rozdělit chromatograficky a D-glukosu zredukovat na D-glucitol. Redukcí D-fruktosy vzniká ekvimolární směs D-glucitolu a D-mannitolu a z této směsi lze opět chromatograficky získat oba alditoly nebo v některých aplikacích je možné použít i jejich směs. D-Glucitol se vyrábí od roku 1950 v krystalické formě nebo jako sirup. Tekutá forma se uplatňuje především v recepturách zubních past a je surovinou při výrobě vitamínu C. Krystalický D-glucitol se používá především v potravinářství, je součástí cukrovinek, diabetického pečiva, konzervárenských výrobků a navíc se využívá jeho schopnost zvyšovat množství vody\*, která je k dispozici v potravinovém substrátu a není chemicky vázána v pevném produktu<sup>12</sup>, tj. působit jako zvlhčovač (alditoly snižují aktivitu vody, tedy výrobek nevysychá a nejvíce se čini DL-xylitol, avšak kvůli ceně se používá D-glucitol). D-Mannitol, jehož produkce je nízká, má použití jako excipient ve farmacii. Maltitol se vyrábí zejména ve formě sirupu, který se používá

\* Pro vodu, která je k dispozici v potravinovém substrátu a není chemicky vázána, byl zaveden termín aktivita vody se zkratkou  $a_w$ . Aktivita vody je definována jako poměr tlaku vodní páry potravin k tlaku páry destilované vody při určité teplotě. Hodnoty aktivity vody se pohybují v rozmezí od 0,00 (suchá látka) do 1,0 (destilovaná voda). Potraviny se podle  $a_w$  dělí na tři velké skupiny: potraviny velmi vlhké (HMF – high moisture foods) s  $a_w$  1,00–0,90; středně vlhké (IMF – intermediate moisture foods) s  $a_w$  0,90–0,60 a suché (LMF – low moisture foods) s  $a_w$  < 0,60.

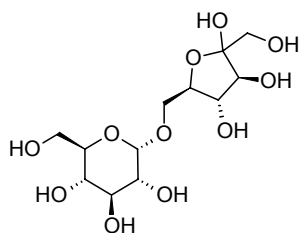
Tabulka I  
Fyzikální vlastnosti sacharosy a vybraných alditolů<sup>40,41</sup>

Alditol	Relativní sladivost <sup>a</sup>	Energetická hodnota [kJ g <sup>-1</sup> ]	LT <sup>b</sup> [g/den)	Rozpustnost při 25 °C [g/100 g H <sub>2</sub> O]	Rozpouštěcí entalpie [J g <sup>-1</sup> ]	Teplota tání [°C]	Hygroskopicitá
Sacharosa	1	17	> 100	185	-18	160–186	nízká
D-Glucitol	0,6	10	50	235	-111	99–101	střední
D-Mannitol	0,5	10	20	22	-121	165–169	velmi nízká
Maltitol	0,9	10	60–90	175	-23	144–147	nízká
Xylitol	1	10	50–90	200	-153	92–95	vysoká
Laktitol · H <sub>2</sub> O	0,3–0,4	10	20–50	140	-58	95–101	nízká
Isomalt	0,4	10	50–70	39	-39	145–150	velmi nízká
Erythritol	0,6–0,7	0	125	61	-180	119–123	velmi nízká

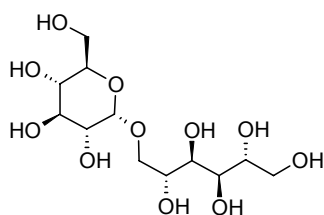
<sup>a</sup> Vztaženo na sacharosu, <sup>b</sup> LT, tj. „Laxation threshold“ – maximální doporučená denní dávka na osobu

do receptur různých potravin, a v práškové formě je surovinou do čokolád.

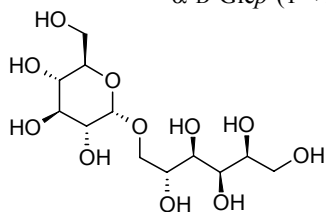
D-Xylitol se vyrábí redukcí D-xylosy, která se získá hydrolyzou hemicelulos bohatých na D-xylosu, např. ze dřeva břízy nebo kukuřičného šustí<sup>10,11</sup>. Díky vysoké hodnotě endotermní rozpouštěcí entalpie se D-xylitol používá



isomaltulosa  
 $\alpha$ -D-Glcp-(1→6)-D-Fruf



1-O- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-D-mannitol  
 $\alpha$ -D-Glcp-(1→1)-D-Man-ol



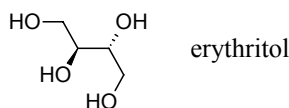
6-O- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-D-glucitol  
 $\alpha$ -D-Glcp-(1→6)-D-Glc-ol

ve žvýkačkách, kde se tato jeho vlastnost vhodně doplňuje s chladivým účinkem aromatických kompozic<sup>13–20</sup>.

Laktosa se izoluje ze syrovátky ultrafiltrací nebo ionexovou chromatografií<sup>21–23</sup> a její redukcí se získá laktitol<sup>24,25</sup>. Laktitol má uplatnění v mléčných výrobcích a je cukernou složkou diabetických mléčných čokolád; je též používán při léčení hepatické encefalopatie. Z laktosy se m.j. připravují i prebiotické galaktooligosacharidy<sup>26</sup>.

Nejmladším alditolem, který je povolen v Evropské unii a je směsí dvou látek, je palatinit<sup>27–30</sup>. Jeho obchodní název v potravinářství je izomalt a ve farmacii<sup>29</sup> galenIQ<sup>TM</sup>. Při jeho výrobě je sacharosa pomocí enzymu glykosyltransferasy transformována na palatinosu (isomaltulosa, 6-O- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-D-fruktosa), která je potom redukována na palatinit (isomalt), což je ekvimolární směs 1-O- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-D-mannitolu a 6-O- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-D-glucitolu. Isomalt je surovinou do cukrovinek a dalších sladkých potravin<sup>31</sup>.

V České republice zatím není povolen erythritol, který se vyrábí fermentací roztoků D-glukosy<sup>32–36</sup>. Na rozdíl od ostatních alditolů erythritol díky malé molekule prochází stěnou tenkého střeva a je z organismu vylučován močí<sup>37</sup>. Erythritol je povolen v USA a Japonsku, Evropská unie doposud pouze publikovala studii, kde se používání erythritolu doporučuje<sup>38</sup>.



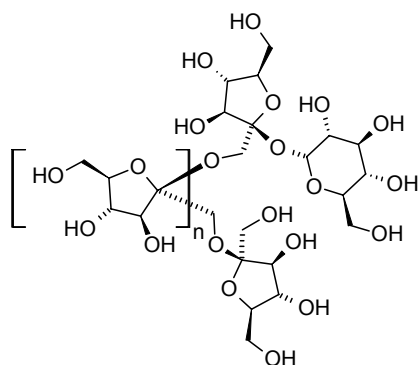
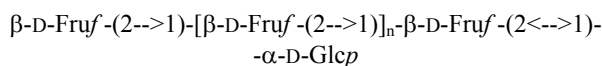
erythritol

Kromě vyjmenovaných alditolů, což jsou definované chemické sloučeniny, se ještě vyrábí sirupy nebo jejich sušené produkty, které vznikly redukcí směsi oligosacharidů, případně polysacharidů s nižší molekulovou hmotností. Jsou to redukované škrobové hydrolyzáty, jako např. maltodextriny nebo redukované fruktany<sup>39</sup>.

Světový trh je alditoly v podstatě nasycen a s výjimkou isomaltu se očekává malý růst produkce. Historicky má průmysl alditolů své kořeny v Evropě, která nemohla soutěžit s výrobou škrobu z kukuřice v USA. Proto řada velkých výrobců alditolů má své sídlo v Evropě, i když v současné době dochází k velkým akvizicím. Mezi největší výrobce alditolů patří společnosti jako jsou Cerestar (Belgie), Roquette Frères (Francie) a SPI Polyols (USA). Hlavním výrobcem laktitolu je Danisco (Dánsko) a isomaltu doposud Südzucker (NSR), kterému na tento produkt skončil patent, a tudíž začíná být vyráběn například společností Cerestar. Jako ve všech odvětvích průmyslu, je očekáván velký růst výroby alditolů v Číně, i když doposud produkce základních potravinářských komodit nedostačuje požadavkům obyvatelstva<sup>11</sup>.

#### 4. Fruktany a fruktooligosacharidy

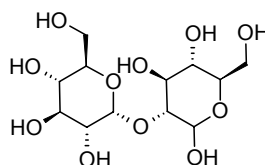
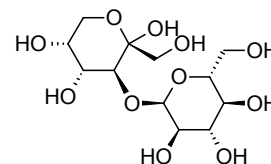
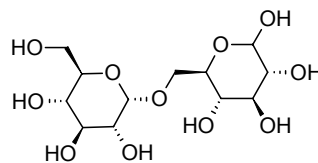
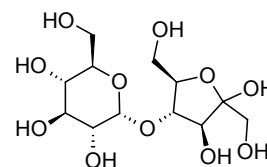
Inulin je zásobním polysacharidem mnoha rostlin, například se nachází v cibulích tulipánů a narcisů, artyčocích, juce, avšak jeho průmyslovým zdrojem je hlavně čekanka. Inulin je polysacharid, který obsahuje převážně D-fruktosu, terminální jednotkou je D-glukosa a jeho stupeň polymerizace bývá udáván  $n \leq 140$ . Fruktosové jednotky jsou spojeny glykosidovými vazbami (1→2)- $\beta$ . Hydrolýzou inulinu se získá směs nižších oligomerů, které se nazývají fruktooligosacharidy (FOS). Inulin a jeho nižší oligomery se uplatňují jako prebiotika, tj. příznivě ovlivňují střevní mikrofloru, a zároveň se nižší oligomery používají jako diabetická sladidla<sup>42,43</sup>. Kromě toho je možné získat směs nižších oligomerů fermentačním procesem<sup>44</sup> a vzniklé oligomery pak mají stejné uplatnění jako oligomery vzniklé hydrolýzou inulinu. Obchodní směs s obvyklým stupněm polymerizace  $n = 3$  až 5 je často nazývána Neosugar, Actilight nebo může mít název Raftilosa, obsahuje zejména kestosu ( $n = 0$ ), nystosu ( $n = 1$ ) a fruktosyl-nystosu ( $n = 2$ )<sup>42,45,50</sup>. Tyto obchodní směsi mají sladivost kolem 50 % v porovnání se sacharosou a mohou se kombi-

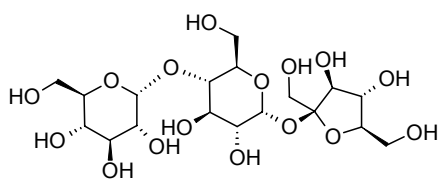
inulin,  $n \leq 140$ 

novat s povolenými přídatnými látkami jako jsou Acesulfam K nebo Aspartam. Světovými výrobci inulinu, jeho hydrolyzátů a případně derivátů jsou např. společnosti Orafit Group (Belgie)<sup>42</sup> a Cargill (USA)<sup>46</sup>.

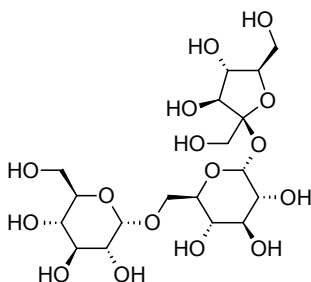
#### 5. Invertní cukr a med

Invertní cukr je směs 50 % D-glukosy a 50 % D-fruktosy, která se vyrábí průmyslově a může se připravovat i v domácnostech. Využívá se buď kyselé nebo enzymové hydrolýzy sacharosy<sup>10,11</sup>. Pro svůj obsah D-fruktosy je poněkud sladší než sacharosa a to asi 1,5krát. Tekuté invertní cukry, ve kterých je sacharosa hydrolyzována jen částečně<sup>5</sup>, se používají kromě slazení i jako zvlhčovač. V přírodním medu je nejvíce zastoupena<sup>47</sup> D-fruktosa (38 %) a D-glukosa (30 %), přičemž celkový obsah redukujících cukrů je zhruba 77 %. Dále med obsahuje do 1 % sacharosy, až 6 % tvoří další disacharidy, jako maltosa (4-O- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-D-glukosa), kojibiosa (2-O- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-D-glukosa), turanosa (3-O- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-

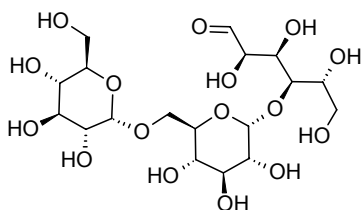
kojibiosa  
 $\alpha\text{-D-Glcp}-(1\rightarrow2)\text{-D-Glcp}$ turanosa  
 $\alpha\text{-Glcp}-(1\rightarrow3)\text{-D-Fruf}$ isomaltosa  
 $\alpha\text{-D-Glcp}-(1\rightarrow6)\text{-D-Glcp}$ maltulosa  
 $\alpha\text{-D-Glcp}-(1\rightarrow4)\text{-D-Fruf}$



erlosa

 $\alpha$ -D-Glcp-(1→4)[ $\beta$ -D-Fruf-(2→1)]- $\alpha$ -D-Glcp

theanderosa

 $\alpha$ -D-Glcp-(1→6)[ $\beta$ -D-Fruf-(2→1)]- $\alpha$ -D-Glcp

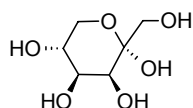
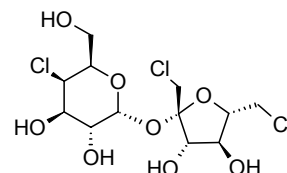
panosa

 $\alpha$ -D-Glcp-(1→6)- $\alpha$ -D-Glcp-(1→4)-D-Glcp

-D-fruktosa), isomaltosa (6-O- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-D-glukosa), a maltulosa (4-O- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-D-fruktosa). Dále může obsahovat až 4 % oligosacharidů, jako například erlosy, theanderosy a panosy<sup>48</sup>. Invertní cukr se za med nesmí vydávat a nesmí se jím med<sup>5</sup> ani porušovat.

## 6. Nový produkt se sladkou chutí – Shugr

Zajímavý je relativně nový produkt uvedený na trh v roce 2005 firmou Swiss Research, divize Health Sciences Group<sup>49</sup>, a který je nazván „shugr“. Je označován jako přírodní (či 99,5 % přírodní) sladidlo, které chutná a je pociťováno v ústech stejně jako třtinový cukr a nemá žádný dodatečný chuťový podtón (aftertaste). Z potravinářského hlediska je hodnocen jako nekalorické sladidlo a je údajně možno s ním vařit a péci jako s cukrem, včetně kynutí, hnědnutí a karamelizace. Shugr se vyrábí jako patentovaná směs erythritolu, maltodextrinu, D-tagatosa s přidávkou malého množství (méně než 0,005 g na čajovou lžičku) sukralosa<sup>50</sup> [(1,6-dichlor-1,6-dideoxy- $\beta$ -D-frukto-

 $\alpha$ -D-tagatofuranosa

sukralosa

furanosyl)-4-chlor-4-deoxy- $\alpha$ -D-galaktopyranosid; 4,1',6'-trichlor-4,1',6'-trideoxygalaktosacharosa]), čímž přívlástek „přírodní“ ztrácí svůj přírodní lesk. A to i kdybychom vzali maltodextrin, který reklama citlivě označuje jako „pocházející z kukuřičného škrobu“, za surovinu „přírodní“. Je vcelku logické, že shugr má potravinářské označení GRAS (Generally Recognized as Safe) od FDA (U.S. Food & Drug Administration). Shugr, i proto, že se dávákuje 1:1 ve srovnání se sacharosou, je zatím poněkud drahý; stojí v maloobchodě (USA) asi 1000 Kč kg<sup>-1</sup>.

## 7. Závěr

Nahlédnutí do nepřehledného hájemství sekundárních metabolitů je drobnou pomůckou, která může být významná pro potravinářského, farmaceutického, či kteréhokoliv chemika, neboť může napomoci širšímu využití citovaných látek v rámci „obnovitelných zdrojů“ zelené chemie. Výčet používaných sladkých látek zde uvedených je nutno brát jako ukázkou několika zajímavých příkladů ilustrující nepřehlednou krásu chemie přírodních látek, které mohou být považovány za typické příklady, a nikoli jako vyčerpávající přehled tak, jak se započatá série článků, zamýšlená m.j. i jako učební pomůcky začíná rozvíjet<sup>51</sup>. Pro další informace odkazujeme na uvedené literární zdroje.

*Autoři tímto děkují MŠMT za podporu v rámci výzkumného záměru č. MSM6046137305. Autoři dále děkují doc. Ing. Karlu Kefurtovi, CSc. za cenné názvoslovné konzultace.*

## LITERATURA

1. <http://www.fao.org> (staženo 5.4.2006).
2. [http://www.spolvyziva.cz/zprava\\_o\\_vyzive/zprava\\_4.php](http://www.spolvyziva.cz/zprava_o_vyzive/zprava_4.php) (staženo 5.4.2006).
3. [http://ec.europa.eu/agriculture/capreform/sugar/index\\_en.htm](http://ec.europa.eu/agriculture/capreform/sugar/index_en.htm) (staženo 5.4.2006).
4. Hamilton-Miller J. M. T.: J. Med. Microbiol. 50, 299

- (2001).
5. Vyhláška č. 76/2003 Sb. částka 32.
  6. Weidenbach G., Bonse D., Meyer B.: US Patent 4665025
  7. OECD, 2004, OECD Agricultural Outlook: 2004-2013, OECD, Paris, Glossary
  8. <http://register.consilium.eu.int/pdf/cs/06/st05/st05588.cs06.pdf> (staženo 7.7.2006).
  9. Vyhláška č. 431/2005 Sb., částka 148.
  10. *BCC Research C-230 The Global Market for Polyols*, October 2001.
  11. Anonym: *Int. Sugar J.* 104, 352 (2002).
  12. <http://www.agronavigator.cz/az/vis.aspx?id=76457> (staženo 24.4.2006).
  13. <http://www.xylitolforyou.com/mission.html> (staženo 5.4.2006).
  14. <http://www.pentosesugar.com/part2-1.html> (staženo 5.4.2006).
  15. <http://www.xylitolworks.com/production.html> (staženo 5.4.2006).
  16. <http://www.xylitol.net/eng/index.php> (staženo 5.4.2006).
  17. Buckl H., Fahn R., Hofstadt C. E.: DE Patent 3980719 (1971).
  18. Melaja A. J., Hamalainen L.: US Patent 4008285 (1977).
  19. <http://www.tifac.org.in/news/view6.htm> (staženo 5.4.2006).
  20. [http://www.ynhh.org/online/nutrition/advisor/sugar\\_alcohol.html](http://www.ynhh.org/online/nutrition/advisor/sugar_alcohol.html) (staženo 5.4.2006).
  21. Durham R. J., Sleigh R. W., Hourigan J. A.: *Australian J. Dairy Techn.* 59, 138 (2004).
  22. Theoleyre M. A.: FR Patent 2 844 280 A1 (2004).
  23. Pederson H. T. Jr.: US Patent 4202909 (1980).
  24. Heikkilä H., Nygren J., Sarkki M.-L., Gros H., Eroma O.-P., Pearson J., Pepper T.: US Patent 6395893 (2002).
  25. Myers C., Heikkilä H., Nikander H., Nurmi J., Nygren J., Perkkalainen P., Pepper T., Pitkaenen I., Valkonen J.: US Patent 6872414 (2005).
  26. Rudolfová J., Čurda<sup>1</sup>: *Chem. Listy* 99, 168 (2005).
  27. Schiweck H.: *Proc. ERGOB Conf.* 1978, 138.
  28. Bollinger H.: *Gordian* 5, 92 (1978).
  29. <http://www.palatinit.com/en/Company/> (staženo 5.4.2006).
  30. Dufлот P., Fouache C.: US Patent 6204378 (2001).
  31. Šmídová I., Čopíková J., Sikora A., Maryška M.: *Chem. Listy* 98, 142 (2004).
  32. Südzucker AG Mannheim/Ochsenfurt: EU patent 0625578, viz: <http://legal.european-patent-office.org/dg3/pdf/t000737du1.pdf> (staženo 5.4.2006).
  33. Horikita H., Hattori N., Takagi Y., Kawaguchi G., Maeda T.: US Patent 4923812 (1990).
  34. Sasaki T., Kasumi T., Kubo N., Kainuma K., Wako K., Ishizuka H., Kawaguchi G., Oda T.: US Patent 4939091 (1990).
  35. Abe S., Satoshi M.: US Patent 5902739 (1990).
  36. Lin S.-J., Wen C.-Y., Hsu W.-H., Liou G.-Y., Chu W.-S.: US Patent 6448053 (2002).
  37. Arrigoni E., Brouns F., Amado R.: *British J. Nutr.* 94, 643 (2005).
  38. [http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out175\\_en.pdf#search=Erythritol](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out175_en.pdf#search=Erythritol), (staženo 5.4.2006).
  39. Vogel M., Kunz M., Kowalczyk J., Munir M.: *Eur. Pat. Appl.* EP 657106 (1995); US 5585480 (1996).
  40. <http://www.spipolyols.com/pdfs/PolyolCompareChart.pdf> (staženo 9.4.2006).
  41. Bubník Z., Kadlec P., Urban D., Bruhns M.: *Sugar Technologists Manual*. Bartens, Berlín (1995).
  42. <http://www.orafti.com/orafti/orafti.nsf/splashcontent?readform> (staženo 7.7.2006).
  43. [http://members.shaw.ca/duncancrow/inulin\\_review.html#Iic](http://members.shaw.ca/duncancrow/inulin_review.html#Iic). (staženo 7.7.2006).
  44. Sangeetha P. T., Ramesha M. N., Prapulla S. G.: *Trends Food Sci. Technol.* 16, 442 (2005).
  45. <http://www.danone-institut.cz/files/2004.03/> (staženo 7.7.2006).
  46. <http://www.cargill.com/index.htm> (staženo 7.7.2006).
  47. <http://www.nhb.org/foodtech/defdoc.html> (staženo 17.4.2006).
  48. Crane E. (ed.): *Honey: A Comprehensive Survey*. Heinemann, London 1975.
  49. <http://www.shugr.com/> (staženo 17. 4. 2006).
  50. Moravcová J.: *Chem. Listy* 95, 202 (2001).
  51. Čopíková J., Uher M., Lapčík O., Moravcová J., Drašar P.: *Chem. Listy* 99, 802 (2005).

**J. Čopíková<sup>a</sup>, O. Lapčík<sup>b</sup>, M. Uher<sup>c</sup>, J. Moravcová<sup>b</sup>, and P. Drašar<sup>b,d</sup>** (<sup>a</sup>*Department of Carbohydrate Chemistry and Technology, Institute of Chemical Technology, Prague,* <sup>b</sup>*Department of Chemistry of Natural Compounds, Institute of Chemical Technology, Prague,* <sup>c</sup>*Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak Technical University, Bratislava,* <sup>d</sup>*Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*): **Non-sucrose Saccharide Sweeteners and Related Compounds**

A brief survey of the most frequently occurring non-sucrose saccharide sweeteners and related compounds aims to show the importance of this group of compounds, which can be utilised, among others, in food and pharmaceutical industry. The beauty and biodiversity of this group of mostly secondary metabolites are illustrated. The article is also meant for teachers and students.

## SPEKTROFOTOMETRICKÉ METÓDY STANOVENIA PRVKOV ZÁSADITÝMI FARBIVAMI – SÚČASNÝ STAV A TRENDY

YAROSLAV BAZEL a VASIL ANDRUCH

Ústav chemických vied, Prírodovedecká fakulta, Univerzita P. J. Šafárika, Moyzesova 11, 04154 Košice  
 yaroslav.bazel@upjs.sk, vasil.andruch@upjs.sk

Došlo 23.6.05, prepracované 13.2.06, prijaté 30.3.06.

**Kľúčové slová:** spektrofotometria, zásadité farbivá, metódy stanovenia prvkov

Pre extrakčno-spektrofotometrické stanovenie viacerých prvkov sa najčastejšie používajú zásadité farbivá. Metódy sú založené na vzniku iónových asociátov, ktoré sú zložené z katiónu zásaditého farbivá a aniónového komplexu prvku<sup>1</sup>. Za použitia zásaditých farbív je možné priame spektrofotometrické stanovenie aj niektorých aniónových zlúčenín, ako sú napr. oxoanióny alebo organické kyseliny<sup>2,3</sup>. Niektorí autori nepovažujú podobné zlúčeniny za iónové asociáty ale za komplexy vo vonkajšej sfére, avšak neuvádzajú potrebné dôkazy<sup>4,5</sup>. Najdôležitejšie vlastnosti iónových asociátov v roztokoch sú: slabá rozpustnosť vo vode, dobrá rozpustnosť v niektorých organických rozpúšťadlách, vysoká hodnota molárneho absorpčného koeficientu. Efektívne využitie uvedených vlastností umožňuje vypracovať vysoko dôkazoschopné, selektívne a rýchle metódy analýzy, ktoré vyhovujú súčasným požiadavkám pre stanovenie viacerých prvkov v zložitých objektoch (často bez predbežného delenia alebo predkoncentrovania).

Pre extrakčno-spektrofotometrické stanovenia sa najčastejšie využívajú farbivá dvoch skupín: trifenylmetánové a rodaminové<sup>1,2</sup>. Uvedené farbivá však často nevyhovujú súčasným požiadavkám na metrologické parametre analýzy. Trifenylmetánové farbivá sa totiž protonujú už v slabokyslom prostredí, preto rozsah optimálnej kyslosti prostredia pri extrakcii prvkov je dosť úzky. V práci<sup>6</sup> sa poukazuje na to, že rozdeľovací koeficient Tl(III) pri extrakcii trifenylmetánovými farbivami z roztokov HCl závisí od doby pobytu farbív vo vodnej fáze. Autori<sup>6</sup> vysvetľujú zníženie hodnoty  $D_{Tl}$  hydrataciou farbív, ktoré spôsobuje zníženie koncentrácie ich reakčioschopných foriem. V rozsahu pH 5–14 prevláda bezfarebná karbinolová forma trifenylmetánových farbív, a v prípade rodaminových farbív – anión s otvorenou laktonovou formou<sup>7</sup>. Veľkou nevýhodou takýchto farbív je ich polymerizácia ako vo vodnej, tak aj v organickej fáze. Uvažuje sa<sup>8</sup>, že koncentračné efekty sú spôsobené vznikom asociovaných molekúl, ktoré sú spojené medzi sebou vodíkovými väzbami. Otázka, či vznikajú vodíkové väzby bezprostredne medzi

molekulami farbív alebo prechodným reťazcom medzi nimi sú molekuly vody, zostáva nevyriešenou.

Stabilita sfarbenia extraktov rôznych komplexných solí toho istého farbivá sa často líši<sup>1</sup>. Nestabilita sfarbenia extraktov často komplikuje možnosti analytického využitia iónových asociátov. Autori<sup>1–3</sup> spájajú stabilitu sfarbenia roztokov iónových asociátov so stabilitou väzby medzi ich katiónom a aniónom. Kritické porovnanie vlastností rôznych trifenylmetánových a rodaminových farbív sa vykonalo len zriedka<sup>9,10</sup>. Vývoj extrakčno-spektrofotometrických metód išiel prevažne cestou vylepšenia metód stanovenia úzkeho okruhu prvkov (Sb, Tl, Hg, Au, Re). Metódy využívajúce uvedené farbivá pre také prvky ako Pb, Co, Ag, Cu, Pt, Mo, W prakticky nie sú známe<sup>1,2</sup>. Napriek tomu, trifenylmetánové a rodaminové farbivá ostávajú dostatočne efektívnymi činidlami pre extrakčno-spektrofotometrické stanovenia, aj keď konkurencia zo strany farbív iných skupín, predovšetkým polymetínových, narastá. V posledných rokoch sa objavili publikácie, ktoré potvrdzujú efektívnosť využitia polymetínových farbív pre extrakčno-spektrofotometrické stanovenie anorganických a organických analytov. Podľa týchto údajov, analytické postupy za použitia polymetínových farbív sú často podľa najdôležitejších analytických charakteristík lepšie než v prípade tradičných trifenylmetánových a rodaminových farbív.

Extrakty iónových asociátov za účasti zásaditých farbív majú vysoké hodnoty molárnych absorpčných koeficientov  $\epsilon$ , čo umožňuje stanovovať veľmi malé množstva zlúčenín. Zvlášť vysoké hodnoty  $\epsilon$  je možné dosiahnuť pre iónové asociáty vytvorené pridaním niekoľkých katiónov farbiva ku iónu o vysokom náboji. V tomto prípade  $\epsilon$  môže dosahovať veľmi vysoké hodnoty rádo vo  $10^5 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . Uvedený spôsob sa môže realizovať pri stanovení aniónov heteropolykyselín. Sú známe metódy extrakčno-spektrofotometrického stanovenia fosforu, kremíku, arzenu, ai., ktoré sú založené na využití zlúčenín príslušných heteropolykyselín s trifenylmetánovými, rodaminovými a niektorými inými farbivami<sup>11–14</sup>. Počet katiónov na jeden heteropolyanión je podľa niektorých autorov tri a viac, je preto ťažké reprodukovať výťažok tohto iónového asociátu, čo spôsobuje nízku reprodukovateľnosť príslušných stanovení. Okrem toho, stupeň extrakcie iónových asociátov je často nízky, preto sa pri tejto metóde viac používa flotačná varianta<sup>15–19</sup>, ktorá však je v porovnaní s extrakčným postupom menej presná.

Vysokou dôkazoschopnosťou sa vyznačujú aj metódy založené na vzniku komplexov s rôznymi ligandami typu iónových asociátov, ktoré obsahujú dve chromoforné činidlá – ligand a zásadité farbivo. Kobalt tak vytvára s 5,7-dichlor-8-hydroxychinolinom komplex typu  $\text{CoA}_2 \times \text{HA}$  ( $\text{pK}_{\text{ex}} = 2,26$ ), ktorý vplyvom rodaminu 6G sa mení na iónový asociát  $[\text{CoA}_3] \text{R}^+$ , čo spôsobuje značný



nárast rozdeľovacieho koeficientu kovu<sup>2</sup>. K zlúčeninám podobného typu môžeme zaradiť i komplex kobaltu s 1-nitrozo-2-naftolom a astrafoxínom<sup>20</sup>. Vznikajúci iónový asociát je extrahovaný toluénom, molárny absorpčný koeficient je  $5,2 \cdot 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . Ako ligandy v uvedených sústavách sa môžu použiť aj iné organické kyseliny ako: benzoová, salicylová, antranilová a tiež dinitropyrokatechín, tenoyltrifluoracetón ai. Metóda sa dá použiť najmä na extrakčno-spektrofotometrické a flotačno-spektrofotometrické stanovenie iónov s vysokým nábojom: Sn(IV) (cit.<sup>21</sup>), W(VI) (cit.<sup>22</sup>), U(VI) (cit.<sup>23</sup>), Ge(IV) (cit.<sup>24</sup>), Mo(VI) (cit.<sup>25</sup>), Zr (cit.<sup>26</sup>), Al (cit.<sup>27</sup>) a niektorých iných. Nevýhodou podobných metód je nedostatočná selektivita stanovenia, preto je často treba uskutočňovať predbežnú separáciu alebo maskovanie. Porovnanie možnosti využitia uvedených sústav pre stanovenie Ge, Sn, Ti, As, Sb, V, Nb, Ta, Mo, W je uvedená v práci<sup>28</sup>.

V niektorých prípadoch je možné dôkazuschopnosť jednotlivých prvkov zvýšiť pomocou extrakčných sústav s využitím vysolovania. Taký efekt je zvlášť značný, ak halogenidové komplexy kovov sú silno hydratované. Na tomto princípe boli vypracované extrakčno-spektrofotometrické metódy stanovenia Fe, Ga, In vo forme chloridových komplexov so zásaditými trifenylnetánovými, kyanínovými a azofarbivami<sup>29–32</sup>.

Spomenutia si zaslúži i spôsob zvýšenia dôkazuschopnosti a selektivity extrakčno-spektrofotometrickej analýzy substitúciou organických činidiel. Autori<sup>33–37</sup> navrhujú extrahovať iónové asociáty za účasti selektívnych farbív, a potom substituovať v organickej fáze citlivým činidlom. Metóda sa použila pri extrakčno-spektrofotometrickom stanovení Hg (cit.<sup>33</sup>), Au (cit.<sup>34,35</sup>), Te (cit.<sup>36</sup>), Ir (cit.<sup>37</sup>).

Malá pozornosť sa venovala vývoju bezextrakčných metód analýzy s použitím zásaditých farbív. Prakticky sa neskúmala otázka zrážania iónových asociátov, vytvorených aniónovými komplexmi prvkov a zásaditými farbivami. Spomedzi prác venovaných skúmaniu tejto otázky, môžeme upozorniť na sériu publikácií F. Mirzoiana a spol.<sup>38–41</sup>, ktoré sa zaoberajú skúmaním podmienok vzniku iónových asociátov vytvorených aniónmi heteropolykyselín a zásaditých farbív vo vodnej fáze. Boli navrhnuté metódy spektrofotometrického stanovenia Mo, As, Ge, Si, P. V 80. rokoch sa objavili publikácie, venované bezextrakčnému spektrofotometrickému stanoveniu Pd, Pt, Zn, Hg stabilizáciou príslušných sfarbených iónových asociátov za účasti trifenylnetánových, antipyridinových a rodaminových farbív pridaním želatíny alebo poly(vinylalkoholu). Možnosti využitia roztokov povrchovo-aktívnych látok na stabilizáciu sfarbených iónových asociátov boli prvýkrát uvedené v prácach<sup>42,43</sup>. Teória uvedeného prístupu bola publikovaná v prácach<sup>44,45</sup>.

Zásadité farbivá je možné použiť aj pre spektrofotometrické stanovenia rôznych povrchovo-aktívnych látok prevažne aniónového typu<sup>3,46</sup>. Absorpčné spektrá iónových asociátov za účasti rôznych aniónových povrchovo-aktívnych látok sú veľmi podobné a sa líšia len intenzitou. To znamená, že stanovovať ich v zmesi je skoro nemožné.

Preto sa odporúča stanovovať celkovú koncentráciu aniónových povrchovo-aktívnych látok v prepočte na jednu z nich. Využitie opakovanej extrakcie v analýze viacložkových sústav umožňuje po príslušnej matematickej optimalizácii súčasne stanovenie niektorých aniónových povrchovo-aktívnych látok (alkylsulfáty, alkánsulfonáty, dialkylfosfáty) v ich zmesi s chybou 5–10 % (cit.<sup>47</sup>). Autori<sup>48</sup> poukazujú na efektívnosť zásaditých farbív (metylenová modrá) aj pre spektrofotometrické stanovenie kationových povrchovo-aktívnych látok.

V posledných rokoch sa objavili publikácie o využití zásaditých farbív pre stanovenie prvkov a zlúčenín netradičných pre túto metódu. Boli vypracované extrakčno-spektrofotometrické metódy stanovenia Mn (cit.<sup>49,50</sup>), Cr (cit.<sup>51,52</sup>), Mo (cit.<sup>53,54</sup>), Cd (cit.<sup>55</sup>), jodidčanových a jodistanových iónov<sup>56,57</sup>. V práci<sup>58</sup> sa opisuje metóda extrakčno-spektrofotometrického stanovenia telúru o vysokej dôkazuschopnosti. Autori<sup>59</sup> navrhujú spektrofotometrickú metódu stanovenia selénu, založenú na katalytickej reakcii metylviolete so sulfidom. Katalytické odfarbenie malachitovej zelene trojmocným titanovým iónom je základom spektrofotometrickej metódy stanovenia volfrámu<sup>60</sup> vykazujúcej vysokú dôkazuschopnosť.

V literatúre nie sú údaje o možnostiach extrakcie iónových asociátov z vodno-organického prostredia aj keď je známe, že takýto postup v spektrofotometrii môže byť dosť účinný. Zvlášť výrazný analytický efekt sa pozoruje pri extrakcii tiokyanátovými komplexmi prvkov alebo viacnásobne nabitými oxoaniónmi a polymetínovými farbivami. Pokusy extrakcie takýchto zlúčenín rôznymi individuálnymi rozpúšťadlami alebo ich zmesami nie sú účinné. Predbežné pridanie do vodnej fázy donorovo-aktívnych rozpúšťadiel (DAR), ktoré sa miešajú s vodou, však spôsobuje značné zvýšenie extrakčnej schopnosti iónových asociátov (synergický účinok) a zároveň zníženie vylúčenia jednoduchej soli farbiva (antagonistický účinok). Maximálne vylúčenie iónových asociátov sa pritom dosahuje práve pri pridaní DAR do vodnej fázy pred extrakciou aromatickými uhl'ovodíkmi alebo esterami, a nie pri ich použití v zmesi s uvedenými extraktantmi. Na príklade iónových asociátov Co, Zn a Pd bolo ukázané, že koncentrácia DAR, ktorá je potrebná pre dosiahnutie maximálnej extrakcie iónových asociátov, koreluje so znížením aktivity vody v DAR (cit.<sup>61–64</sup>) a tiež so zvýšením ich donorových čísel podľa Gutmanna. Získané hodnoty molárneho absorpčného koeficientu extraktov rôznych iónových asociátov Ag(I), Hg(II), Co(II), Pd(II), Pt(II), Zn:  $\varepsilon = (6,0–26,0) \cdot 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  svedčia o vysokej citlivosti reakcií a perspektíve využitia takýchto analytických foriem v spektrofotometrii.

Využitím extrakcie z vodno-organických prostredí sa podarilo extrahovať vo forme iónových asociátov s polymetínovými farbivami tiež oxoanióny s vysokým nábojom: W(VI) a Mo(VI) (cit.<sup>65,66</sup>). Osobitne cenným je to, že pridanie do vodnej fázy DAR spôsobuje výrazný rast extrakcie iónových asociátov volfrámu a zároveň potláča extrakciu jednonábojových iónov  $\text{ReO}_4^-$ ,  $\text{ClO}_4^-$ ,  $\text{IO}_4^-$ ,  $\text{SCN}^-$ . Toto umožnilo vypracovať metódy extrakčno-

Tabuľka I

Charakteristiky vybraných spektrofotometrických metód stanovenia prvkov zásaditými polymetínovými farbivami

Prvok	Činidlo	Podmienky stanovenia	Rozpúšťadlo	$\lambda$ [nm]	$\epsilon \times 10^4$ , [L mol <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> ]	Rozsah stanovenia, [mg L <sup>-1</sup> ]
Ga <sup>32</sup>	DTVTI <sup>a</sup>	4 M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ; 2,2 M LiCl	toluén:MEK (4:1)	566	8,9	0,05–1,80
W <sup>57</sup>	DIC <sup>b</sup>	pH 4; 16% DMF	benzén	560	2,8	0,2–7,0
Co <sup>61</sup>	NDIC <sup>c</sup>	pH 5; 2,0 M NaSCN; 10% DMF	toluén	552	24,4	0,11–1,80
Zn <sup>62</sup>	SBR <sup>d</sup>	pH 5; 0,06 M NaSCN; 18% DMF	toluén	571	18,2	0,05–1,50
Pd <sup>63</sup>	BIC <sup>e</sup>	pH 0; 0,0005 M NaSCN; 28% acetón	toluén	553	13,3	0,02–8,00
Cu <sup>71</sup>	CV <sup>f</sup>	pH 5; 0,0005 M NaSCN	toluén	587	–	0,002–2,000
Fe <sup>72</sup>	CV	6 M HCl	benzén	588	12,0	0,02–4,00
Tl <sup>73</sup>	CR <sup>g</sup>	pH 1; 0,01 M NaCl	toluén	550	8,5	–
Pb <sup>74</sup>	CRV <sup>h</sup>	8 M H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> ; 0,15 M NaBr	benzén	554	6,5	0,05–6,00

<sup>a</sup> DTVTI – 2-{2-[5-(dimetylamino)-2-tienyl]vinyl}-1,3,3-trimetyl-3*H*-indol-1-ium,<sup>b</sup> DIC – [1,3,3-trimetyl-3*H*-indol-1-ium-2-yl][1,3,3-trimetyl-3*H*-indol-1-ium-2]trimetínycyanín,<sup>c</sup> NDIC – [1,3,3-trimetyl-6-nitro-3*H*-indol-1-ium-2-yl][1,3,3-trimetyl-3*H*-indol-1-ium-2-yl]-trimetínycyanín,<sup>d</sup> SBR – 2-[4-(dietylamino)-2-metylstyryl]-1,3,3-trimetyl-3*H*-indol-1-ium,<sup>e</sup> BIC – [1,3,3-trimetyl-3*H*-indol-1-ium-2-yl][1-metylbenzotiazol-3-ium-2-yl]trimetínycyanín,<sup>f</sup> CV – 2-{4-[(4-etoxyfenyl)metylamino]styryl}-5-(karboxymetyl)-1,3,3-trimetyl-3*H*-indol-1-ium,<sup>g</sup> CR – 2-{4-[(2-chloroetyl)metylamino]styryl}-1,3,3-trimetyl-3*H*-indol-1-ium,<sup>h</sup> CRV – 2-{4-[(4-etoxyfenyl)metylamino]styryl}-1,3,3-trimetyl-3*H*-indol-1-ium

spektrofotometrického stanovenia volfrámu za prítomnosti uvedených iónov a tiež Mo(VI), V(V) ai.<sup>65,66</sup> Niektoré vybrané spektrofotometrické metódy stanovenia prvkov polymetínovými farbivami sú zhrnuté v tabuľke I.

Netradičným smerom využitia zásaditých farbív je spektrofotometria tuhej fázy. Podobné práce sa objavili v literatúre nedávno<sup>67,68</sup> a zasluhujú pozornosť. Perspektívnym môže byť využitie farbív zachytených na povrchu nosičov rôznej povahy. Takéto modifikované sorbenty umožňujú spájať vylúčenie a koncentrovanie s detekciou analytického signálu bezprostredne na fáze nosiča<sup>48,68</sup>. Sú známe prípady využitia iónových asociátov v prietokovej spektrofotometrii<sup>69</sup>, a tiež ako testovacie metódy<sup>70</sup>.

Selektivita extrakčno-spektrofotometrických metód stanovenia prvkov je bezpochyby vyššia než selektivita bezextrakčných metód. Výhodou posledných, okrem jednoduchosti a rýchlosti, je možnosť analýzy za prítomnosti veľkých nadbytkov dusičnanových a chloristanových iónov, ktoré bežne rušia extrakčno-spektrofotometrické stanovenie. Najdôležitejšie spôsoby zvýšenia selektivity metód stanovenia prvkov s použitím zásaditých farbív sú: voľba optimálneho činidla, voľba a regulovanie koncentrácie ligandu, extrakcia z kyslého alebo zásaditého prostredia, extrakcia z vodno-organického prostredia, predbežná extrakcia prvku bez farbiva, zrážanie rušivých iónov na

kolektore, zmena oxidačného stavu prvku, re-extrakcia, využitie maskovania a pod. Pri optimálnom využití uvedených faktorov selektivita extrakčno-spektrofotometrického stanovenia niektorých prvkov môže byť veľmi vysoká. Ako príklad uvádzame selektivitu extrakčno-spektrofotometrického stanovenia Tl(III) vo forme halogenidových komplexov farbivom kationovou ružovou 2C a niektorých prvkov vo forme tiokyanátových komplexov polymetínovými farbivami (tabuľka II).

Z uvedeného vyplýva, že zásadité farbivá ostávajú jedným z najefektívnejších analytických činidiel obzvlášť pre extrakčno-spektrofotometrické stanovenie mikromnožstiev prvkov. Spojenie vysokej dôkazuschopnosti a optimálnej selektivity a tiež relatívna jednoduchosť a rýchlosť robia tieto metódy nenahraditeľnými pri analýze vysokočistých látok, zložiek životného prostredia, polovodičových a supravodičových látok, zliatin ap. Najdôležitejšie trendy ďalšieho výskumu uvedených sústav sú:

- syntéza nových farbív s optimálnymi analytickými vlastnosťami, s využitím možností súčasných kvantovo-chemických metód a tiež veľkého empirického materiálu,
- výskum v oblasti teórie iónových asociátov s využitím zásaditých farbív, získanie kvantitatívnych charakteristík (konštanty extrakcie, asociácie, rozdelenia ióno-

Tabuľka II

Faktory selektivity extrakčno-spektrofotometrického stanovenia prvkov polymetínovými farbivami

Rušivý ión	Použitý systém					
	[TiCl <sub>4</sub> ]/CR	[TiBr <sub>4</sub> ]/CR	[TiI <sub>4</sub> ]/CR	[Cu(SCN) <sub>2</sub> ]/CV	[Pd(SCN) <sub>3</sub> ]/DIC	[Co(NCS) <sub>4</sub> ]/(NDIC) <sub>2</sub>
Ga(III)	100	200	100	1000	1000	–
In(III)	500	200	10	1000	800	–
Hg(II)	5	R	R	100	2	20*
Co(II)	1000	1000	1000	10000	1000	–
Cd(II)	200	10	R	20000	6000	100
Fe(II)	500	50	50	5000	1000	200
Al(III)	1000	1000	500	10000	10000	1000
Zn(II)	1000	1000	1000	30000	2000	R
Cr(III)	1000	1000	1000	40000	10000	1000
Cu(II)	800	100	R	–	1000	50*
Sn(II)	1000	100	R	100	–	–
Pb(II)	1000	150	R	30000	500	10
Mn(II)	1000	1000	1000	50000	30000	7000
Sb(III)	50	R	R	1000	–	–
Ni(II)	1000	1000	1000	50000	10000	50000
Fe(III)	500	10	R	2000	1000	20*
Ag(I)	50	R	R	100	10	15*
Bi(III)	500	500	R	1000	200	8
Au(III)	R	R	R	3*	5*	10*

\* – za prítomnosti maskujúcich činidiel, R – ruší stanovenie, chyba viac ako 5 %, faktor selektivity  $F = C_x/C$ , kde  $C_x$  je koncentrácia rušivého prvku,  $C$  je koncentrácia analytu

vých asociátov ap.). Databáza údajov umožňuje predpokladať extrakčnú schopnosť a analytický význam rôznych iónových asociátov,

- vyhľadávanie nových analytických foriem, ktoré sú vhodné pre analýzu organických látok (organické kyseliny, fenoly, povrchovo-aktívne látky ai.),
- využitie zásaditých farbív v iných analytických metódach, napr. v fluorescenčnej analýze, potenciometrii, voltamperometrii, chromatografii,
- vývoj vizuálnych testovacích sústav na základe rôznych iónových asociátov, vrátane sústav na nosičoch modifikovaných farbivami.

*Autori sú povďační prof. Eduardovi Plškovi za pomoc a užitočné rady pri príprave rukopisu.*

## LITERATÚRA

1. Bľum I. A.: *Ekstrakcionno-fotometričeskije metody analiza s ispolzovanijem osnovnyh krasitelej (in Russian)*. Nauka, Moskva 1970.
2. Pilipenko A. T., Tananajko M. M.: *Raznoligandnyje*

*i raznometalnyje komplekxy i ich primenenije v analitičeskoj chimiji (in Russian)*. Chimija, Moskva 1983.

3. Korenman I. M.: *Ekstrakcia v analize organičeskich veščestv (in Russian)*. Chimija, Moskva 1977.
4. Kuznecov V. V.: *Usp. Chim.* 40, 1409 (1986).
5. Grigorjan A. A., Musa S., Tazarjan K. G., Markarjan Š. A.: *Ž. Neorg. Chim.* 38, 1704 (1993).
6. Vdovenko V. M., Aleksejeva N. A., Buľanica L. S.: *Ž. Anal. Chim.* 27, 2363 (1972).
7. Poluektov N. S., Drobjazko V. N., Meškova S. B.: *Ž. Anal. Chim.* 28, 1408 (1973).
8. Baranova E. G., Levšin L. V.: *Opt. Spektrosk.* 10, 362 (1981).
9. Dobkina B. M., Kučmistaja G. I., Nadeždina G. B., Davidova N. M.: *Zavod. Lab.* 39, 671 (1973).
10. Babko A. K., Ivaškovič E. M.: *Ž. Anal. Chim.* 27, 120 (1972).
11. Alimarin I. P., Doročova E. P., Živopiscev V. P., Bondareva E. G., Kazmin P. G.: *Ž. Anal. Chim.* 39, 965 (1984).
12. Motomizu Shoji, Wakimoto Toshiaki, Toei Kyoui.:

- Talanta 31, 235 (1984).
13. Vakulič A. N., Ciganok L. P., Višnikin A. B.: Ukr. Chim. Ž. 64, 53 (1988).
  14. Minczewski J., Chwastowska J., Lachowicz E.: Chem. Anal. (Warsaw) 24, 301 (1979).
  15. Ivanova I. F., Ganago L. I.: Ž. Anal. Chim. 30, 1395 (1975).
  16. Skripčuk V. G.: Ž. Anal. Chim. 36, 1362 (1981).
  17. Marczenko Z., Jarosz M.: Analyst 106, 751 (1981).
  18. Golubcova Z. G., Lebedeva L. I., Dudko L. M.: Ž. Anal. Chim. 38, 841 (1983).
  19. Lobinski R., Marczenko Z.: Anal. Sci. 4, 629 (1988).
  20. Balogh J., Molnar J.: ACH-Models Chem. 136, 415 (1999).
  21. Nazarenko V. A., Vinarova L. I., Lebedeva N. V.: Ž. Anal. Chim. 30, 617 (1975).
  22. Nazarenko V. A., Poluektova E. N., Šitareva G. G.: Ž. Anal. Chim. 28, 1966 (1973).
  23. Kovalenko P. N., Ščemeleva G. G., Stepanenko Ju. V.: Ž. Anal. Chim. 26, 1979 (1971).
  24. Flantikova G. V., Korolenko L. I.: Ž. Anal. Chim. 30, 1349 (1975).
  25. Sato S., Iwamoto M., Uchikawa S.: Talanta 34, 419 (1987).
  26. Bel'ukova S. V., Poluektov N. S., Meškova S. B.: Ž. Anal. Chim. 27, 191 (1971).
  27. Čundak S. Ju., Sucharev S. N.: Ž. Anal. Chim. 52, 609 (1997).
  28. Antonovič V. P., Vinarova L. I., Stojanova I. V.: Ukr. Chim. Ž. 62, 136 (1996).
  29. Balog I. S., Kiš P. P., Bagrejev V. V.: Ž. Anal. Chim. 43, 1750 (1988).
  30. Balog I. S., Kiš P. P., Bagrejev V. V.: Ž. Anal. Chim. 44, 1213 (1989).
  31. Balog I. S., Kiš P. P., Bagrejev V. V., Pohojda I. I.: Ž. Anal. Chim. 45, 289 (1990).
  32. Bazel' Ja. R., Kiš P. P., Ševčuk L. I.: Ž. Anal. Chim. 46, 1520 (1991).
  33. Bl'um I. A., Brunštejn I. A., Oparina L. I.: Ž. Anal. Chim. 26, 48 (1971).
  34. Bl'um I. A., Pavlova N. N., Kalugina F. P.: Ž. Anal. Chim. 26, 55 (1971).
  35. Gantchev N., Dimitrova A.: Talanta 19, 821 (1972).
  36. Skripčuk V. G., Bormotova L. V., Lukojanova L. P., Tretjakova M. I.: Zavod. Lab. 49, 1 (1983).
  37. Marczenko Z., Kalinowski K.: Anal. Chim. Acta 144, 173 (1982).
  38. Mirzojan F. V., Sarkisjan N. P., Petrosjan A. A.: Ukr. Chim. Ž. 53, 391 (1987).
  39. Mirzojan F. V., Tarajan V. M., Ajrian E. Ch.: Ž. Anal. Chim. 39, 2010 (1984).
  40. Mirzojan F. V., Sarkisjan N. P.: Zavod. Lab. 52, 14 (1986).
  41. Mirzojan F. V., Tarajan V. M.: Ž. Anal. Chim. 35, 1293 (1980).
  42. Kiš P. P., Bazel' Ja. R., Zikaň K. I.: Ž. Anal. Chim. 41, 1061 (1986).
  43. Kiš P. P., Bazel' Ja. R.: Ž. Anal. Chim. 44, 413 (1989).
  44. Dolenko S. A., Kuličenko S. A., Suchan V. V.: Ukr. Chim. Ž. 62, 126 (1996).
  45. Lyčnikov D. S., Kazmin P. G., Dorochova E. N., Gračeva N. A.: Ž. Anal. Chim. 41, 2215 (1986).
  46. Volkov A. Z., Živopisec V. P.: Ž. Anal. Chim. 44, 1126 (1989).
  47. Drozd A. V., Klimov V. G.: Ž. Anal. Chim. 53, 811 (1998).
  48. Nikolenko N. V., Masjuta Z. V., Plaksijenko I. L., Tul'upa F. M.: Ž. Anal. Chim. 54, 268 (1999).
  49. Balogh I. S., Andruch V., Kovacs M.: Anal. Bioanal. Chem. 377, 709 (2003).
  50. Kamburova M. A., Nikitova D. D.: Ž. Anal. Chim. 53, 970 (1998).
  51. Kamburova M.: Microchim. Acta 58, 1 (1998).
  52. Andruch V., Telepcakova M., Balogh I. S., Urbanova N.: Microchim. Acta 142, 109 (2003).
  53. Bazel' Ja. R.: Ukr. Chim. Ž. 64, 122 (1998).
  54. Kamburova M. A., Alexandrov A.: Ž. Anal. Chim. 53, 589 (1998).
  55. Shaopu Liu, Zhongfang Liu, Ming Liu, Nianbing Li, Hongqun Luo.: Fresenius' J. Anal. Chem. 368, 848 (2000).
  56. Kamburova M. A.: Ž. Anal. Chim. 53, 140 (1998).
  57. Kormosh Z. O., Bazel' Ya. R., Balog J. S.: ACH-Models Chem. 136, 421 (1999).
  58. Balogh I. S., Andruch V.: Anal. Chim. Acta. 386, 161 (1999).
  59. Afkhami A., Mosad F.: Ž. Anal. Chim. 54, 1268 (1999).
  60. Pourreza N., Mohammadi-Sedehe I.: Talanta 56, 435 (2002).
  61. Bazel' Ya. R., Kushnir L. N., Korzhova E. P., Studenyak Y. I., Tolmachev A. A.: Ž. Anal. Chim. 49, 686 (1994).
  62. Kiš P. P., Bazel' Ja. R., Studeňak Ja. I.: Ž. Anal. Chim. 47, 1233 (1992).
  63. Bazel' Ja. R., Studeňak Ja. I., Tolmačev A. A.: Ž. Anal. Chim. 52, 603 (1997).
  64. Kuznecov V. V.: Ž. Anal. Chim. 45, 1704 (1990).
  65. Bazel' Ja. R., Kormoš Ž. A., Studeňak Ja. I.: Ukr. Chim. Ž. 62, 50 (1996).
  66. Kormoš Ž. A., Bazel' Ja. R.: Ž. Anal. Chim. 54, 690 (1999).
  67. Ostrovskaya V. M., Zaporozhets O. A., Budnikov G. K., Chernavskaya N. M.: Voda. Indikatornyje sistemy (in Russian). Moskva 2002.
  68. Zaporožec O. A., Žukova K. M., Borjak A. K., Tabenska T. V., Iščenko V. B., Suchan V. V.: Ukr. Chim. Ž. 64, 114 (1998).
  69. Burns D. T., Chimpalec N., Harriott M.: Anal. Chim. Acta. 217, 177 (1989).
  70. Marčenko D. Ju., Morosanova E. M., Kuzmin N. M., Zolotov Ju. A.: Ž. Anal. Chim. 54, 519 (1999).
  71. Kish P. P., Studenyak Y. I., Bazel' Ya. R.: Ind. Lab. 58, 1120 (1992).
  72. Balog I. S., Bazel' Ya. R., Voronich O. G., Kushnir L. N., Kish P. P.: Ind. Lab. 54, 1240 (1988).

73. Kish P. P., Bazel Ya. R., Tartsii V. Y., Troyanov I. A., Blyumberg M. Yu.: *Ž. Anal. Chim.* **43**, 1636 (1988).  
 74. Kish P. P., Bazel Ya. R., Balog I. S.: *Ž. Anal. Chim.* **40**, 1640 (1985).

**J. Bazel' and V. Andruch** (*Department of Chemistry, P. J. Šafárik University, Košice*): **Spectrophotometric Determination of Elements Using Basic Dye Reagents – The Present State and Trends**

The review discusses the current state of application of basic dyes in analytical chemistry and the most important trends for further research. Basic dyes remain one of the most effective analytical reagents, especially for extractive spectrophotometric determination of micro-amounts of elements. High sensitivity, selectivity as well as simplicity and speed make the methods indispensable in analysis of high-purity materials, environmental samples, semi- and superconductor materials, and others.



**Located in Northern Ireland**, Almac provides world-class, integrated research, development and manufacturing services to over 600 companies worldwide, including all the market leaders within the pharmaceutical and biotechnology sectors. For more information see [www.almacgroup.com](http://www.almacgroup.com).

Tim Lewis Recruitment on behalf of Almac wishes to recruit additional analytical chemists and microbiologists and would welcome applications for the following positions:

<b>Analytical Chemists</b>	<b>£17,000 - £23,000 / p.a.</b>
<b>Senior Analytical Chemists</b>	<b>£23,000 - £27,000 / p.a.</b>
<b>Analytical Team Leaders</b>	<b>£27,000 - £35,000 / p.a.</b>
<b>Microbiologists</b>	<b>£17,000 - £27,000 / p.a.</b>

#### Requirements

All candidates for Analytical positions

- Degree in chemistry, analytical chemistry or a related subject
- Familiar with modern analytical methods e.g. HPLC and GC
- Ability to develop new methods, frequently within short timescales
- Strong verbal and written communication skills
- Ability to demonstrate competence in the use of written and spoken English

#### Microbiologists should possess

- Science degree, preferably in a biological discipline and at least 1 year's relevant experience. Experience of working in a pharmaceutical or quality control environment is desirable.

#### We offer

- Work in Almac's state-of-the-art analytical laboratories which are equipped with a wide range of modern instrumentation
- An attractive remuneration package and exciting opportunities for learning and development

**If you are interested in working abroad and the above positions please contact us**  
**TLR (Europe) s. r. o., nám. I. P. Pavlova 1785/3, 120 00 Praha 2**  
**Tel.: 224 941 040, Fax: 224 941 038, E-mail: [pslastna@timlewisrecruitment.com](mailto:pslastna@timlewisrecruitment.com)**  
**[www.timlewisrecruitment.com](http://www.timlewisrecruitment.com)**

## HETEROGENNÍ KATALYZÁTORY PRO ACYLAČNÍ REAKCE

JANA MAYEROVÁ

Ústav fyzikální chemie Jaroslava Heyrovského, Akademie věd České republiky, Dolejškova 3, 182 23 Praha 8  
jana.klisakova@centrum.cz

Došlo 6.1.2.04, přepracováno 2.3.06, přijato 13.4.06.

Klíčová slova: acylace, katalyzátory pro acylační reakce, speciální chemikálie

### Obsah

1. Úvod
2. Katalyzátory pro acylační reakce
  - 2.1. Molekulová síta
  - 2.2. Heteropolykyseliny
  - 2.3. Trifláty
  - 2.4. Modifikovaný ZrO<sub>2</sub>
  - 2.5. Katalyzátory na bázi jílu
  - 2.6. Speciální typy katalyzátorů
3. Příklady acylačních reakcí
4. Závěr

### 1. Úvod

Acylační reakce aromatických sloučenin představují jeden z hlavních postupů přípravy aromatických ketonů, které jsou významnými meziprodukty při syntéze speciálních chemikálií<sup>1</sup>. Acylační reakce jsou klíčovým krokem v řadě procesů zaměřených na výrobu léků, pesticidů, barviv, vonných a chuťových látek<sup>2</sup>. Acylace byly poprvé popsány na konci 19. století a navzdory četným studiím se dosud nepodařilo vyřešit veškeré nedostatky spojené s použitím klasických Friedelových-Craftsových katalyzátorů<sup>3</sup>. Běžný postup přípravy aromatických ketonů zahrnuje reakci aromatického uhlovodíku s derivátem karboxylové kyseliny v přítomnosti Lewisovy (AlCl<sub>3</sub>, FeCl<sub>3</sub>, ZnCl<sub>2</sub>, BF<sub>3</sub>) nebo Brønstedovy (HF, kyselina polyfosforečná) kyseliny. Acylační reakce patří do skupiny elektrofilních substitucí a aktivní částicí je zde acyliový kationt, který vzniká reakcí derivátu karboxylové kyseliny s Lewisovou nebo Brønstedovou kyselinou. V následujícím kroku reaguje tento ion v případě syntézy aromatických ketonů s  $\pi$ -elektronovým systémem aromatické sloučeniny a vzniká přechodně cyklohexadienylový kationt. Konečným odtřazením atomu vodíku je obnoven aromatický systém za vzni-

ku acylaromátu. Hlavními nevýhodami těchto standardních postupů je nutnost použít nadstechiometrické množství Lewisovy kyseliny pro tvorbu stabilního stechiometrického komplexu ketonového produktu a Lewisovy kyseliny. Působením vody dochází k rozkladu tohoto komplexu a uvolnění vlastního produktu, současně však je tento krok spojen s destrukcí Lewisovy kyseliny a tvorbou velkého množství nebezpečných odpadních látek<sup>3</sup>. Určitých úspěchů v acylačních reakcích bylo dosaženo s použitím katalyzátorů na bázi triflátů (derivátů kyseliny trifluormethansulfonové), které na rozdíl od klasických Friedelových-Craftsových katalyzátorů vytvářejí méně stabilní komplexy s ketony. Nicméně jejich opětovné použití není jednoduché v důsledku obtížné separace z reakční směsi a zdoluhavé regenerace. Zdá se, že největších úspěchů v acylačních reakcích bylo dosaženo v posledních letech díky použití heterogenních katalyzátorů na bázi zeolitů. První průmyslová aplikace zeolitů v acylačních reakcích byla uskutečněna firmou Rhodia<sup>4</sup> při acylacích anisolu (methoxybenzenu) v kapalné fázi na zeolitech Beta a Y. Využití zeolitových katalyzátorů v těchto acylačních reakcích vedlo k významnému zjednodušení celého procesu, zvýšení výtěžku 4-methoxyacetofenonu v důsledku tvarové selektivity zeolitů a ke snížení množství odpadních látek.

Acylačními činidly mohou být halogenidy, anhydridy a estery karboxylových kyselin i kyseliny samotné. Použití jednotlivých činidel závisí na zvoleném katalyzátoru a určitých reakčních podmínkách. Z průmyslového hlediska je mnohdy výhodnější použití karboxylových kyselin nebo jejich anhydridů jako acylačních činidel oproti halogenidům, neboť nevznikají nebezpečné a vysoce korozivní halogenovodíky. Naopak nevýhodou je, že pouze část molekuly anhydridu je efektivně využita v acylačních reakcích, zatímco z druhé části vzniká odpovídající kyselina.

Aplikacím heterogenních popř. heterogenizovaných katalyzátorů v acylačních reakcích je věnováno mnoho publikací, např.<sup>1–3</sup>. Tento příspěvek je zaměřen především na porovnání výhod a nevýhod různých typů katalyzátorů pro acylační reakce u průmyslově zajímavých nebo nadějných reakcí. Zvláštní pozornost je soustředěna na acylační reakce, které jsou součástí syntézy ibuprofenu<sup>5</sup> (schéma 1) a naproxenu<sup>6</sup> (schéma 2), tedy léčiv se silnými protizánětlivými účinky.

### 2. Katalyzátory pro acylační reakce

Hlavními a nejčastěji používanými heterogenními katalyzátory pro acylační reakce jsou zeolity a zeotypy, mesoporézní molekulová síta, heteropolykyseliny (samotné nebo na vhodném nosiči), modifikovaný ZrO<sub>2</sub>, pryskyřice nebo katalyzátory na bázi jílu.

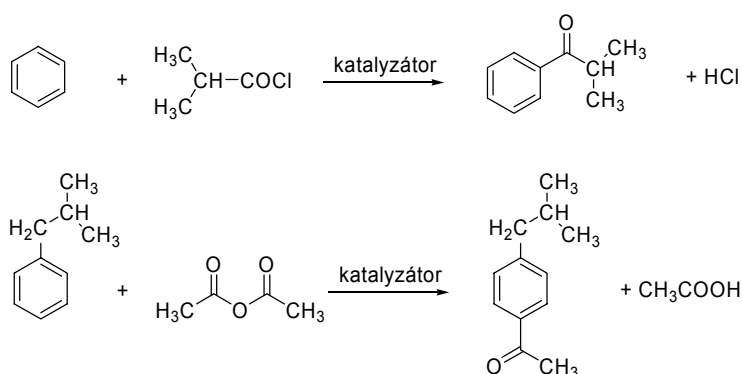


Schéma 1. Acylační reakce při syntéze ibuprofenu

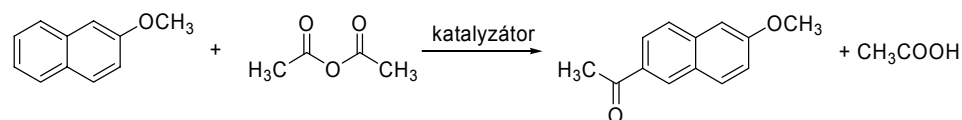


Schéma 2. Acylační reakce při syntéze naproxenu

### 2.1. Molekulová síta

Název molekulová síta pro tyto krystalické a amorfní materiály byl odvozen od jejich síťového efektu pro molekuly. Tento efekt je spojen s definovanou kanálovou strukturou molekulových sít. Velikost těchto kanálů je srovnatelná s kinetickými průměry jen určitých organických molekul, čímž je přesně vymezen vstup pouze molekul o dané velikosti. Krystalické mikroporézní hlinitokřemičitany s přesně definovanou strukturou jsou označovány jako zeolity a jsou zajímavé především pro svoji vysokou tepelnou stabilitu, tvarovou selektivitu a nezávadnost v životním prostředí<sup>7,8</sup>. Navíc aktivitu zeolitu a jeho selektivitu v daném procesu lze měnit např. iontovou výměnou, následnými syntézními postupy nebo nahrazením skeletových atomů křemíku jinými prvky s podobnými vlastnostmi (zeotypy). Ze strukturního hlediska jsou zeolity popisovány

jako třírozměrné anorganické polymery sestavené z opakujících se tetraedrů  $\text{SiO}_4$  a  $\text{AlO}_4$  navzájem propojených můstkovým atomem kyslíku, přičemž dva tetraedry Al nemohou sdílet společný kyslíkový atom (Loewensteinovo pravidlo)<sup>9</sup>.

Čtyřvázný atom Al v krystalické mřížce je nositelem záporného náboje, který musí být kompenzován organickými případně anorganickými kationty nebo protony. Poskytování těchto protonů molekulám adsorbovaným na povrchu je podstatou jejich katalytické aktivity v acidobazických reakcích. Dosud bylo připraveno více než 150 strukturních typů zeolitů, které se liší velikostí, tvarem a prostorovým uspořádáním jednotlivých kanálů. Zeolity našly hlavní využití při zpracování ropy (krakování), v petrochemii a v současné době se zvyšuje poptávka po zeolitech i v syntézách chemických specialit<sup>10–13</sup>. Přehled vybraných strukturních typů zeolitů spolu s jejich aplika-

Tabulka I

Přehled základních vlastností nejpoužívanějších zeolitů a reakcí

Zeolit	Kanálová struktura	Průměr kanálů (nm)	Aplikace
Beta	3D	$0,76 \times 0,64$	acylace naftalenu
Mordenit	2D	$0,65 \times 0,7$ a $0,26 \times 0,57$	acylace 2-methoxynaftalenu
Y	3D	0,74	acylace xylenu
MCM-22	3D	$0,55 \times 0,4$ a $0,55 \times 0,4$	acylace anisolu

Tabulka II  
Acylační reakce katalyzované molekulovými sítí

Substrát	Acylační činidlo	Produkt	Katalyzátor
Toluen	isobutyrylchlorid	isopropyl(4-methylfenyl)keton	zeolit Beta, Y, Mordenit
Toluen	acetanhydrid	2- a 4-methylacetofenon	zeolit ZSM-5, Beta
Mesitylen	acetylchlorid	2,4,6-trimethylacetofenon	zeolit Beta
Naftalen	benzoylchlorid	2-benzoylnaftalen	zeolit Beta a Y
Veratrol	acetanhydrid	3,4-dimethoxyacetofenon	zeolit Beta a Y
2-Methoxynaftalen	acetanhydrid	1-acetyl-2-methoxynaftalen	zeolit Beta
Bifenyl	anhydrid kys. benzoové	4-fenylbenzofenon	zeolit Beta
Fenol	methylacetát	2-hydroxyacetofenon	ZSM-5
Benzen	benzoylchlorid	benzofenon	Ga <sub>2</sub> O <sub>3</sub> a In <sub>2</sub> O <sub>3</sub> /MCM-41
Fenol	kyselina octová	2- a 4-hydroxyacetofenon	Al-MCM-41

cemí v acylačních reakcích je uveden v tabulce I.

Vzhledem k mikroporéznímu charakteru zeolitů, který omezuje vstup objemných molekul do kanálového systému, je mnoho prací zaměřeno na syntézu mesoporézních křemičitanových a hlinitokřemičitanových molekulových sítí, připravovaných s použitím povrchově aktivních látek<sup>14</sup>. Tato skupina materiálů, vykazující specifické povrchy nad 700 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup> a pravidelné průměry pórů 1,5–20 nm, se obecně nazývá M41S a její kanálové systémy jsou uspořádány do hexagonálních (MCM-41), kubických (MCM-48) nebo lamelárních (MCM-50) sestav<sup>15</sup>. Mesoporézní struktury vzhledem k velikosti pórů umožňují difuzi i objemných molekul reaktantů a produktů, a proto jsou nejen nadějnými katalyzátory<sup>14–19</sup>, ale i vyhledávanými nosiči pro katalyticky aktivní fáze<sup>20,21</sup>. Zavedením atomů hliníku do struktury mesoporézního molekulového síta se stává tento materiál atraktivní zejména pro kysele katalyzované reakce. V tabulce II jsou uvedeny příklady acylačních reakcí katalyzovaných mesoporézními molekulovými sítí.

V souvislosti se zmíněnými výhodami mikroporézního a mesoporézního systému se zdá být žádoucí příprava katalyzátorů kombinujících výhody obou systémů. Katalyzátory na bázi ITQ-2 a MCM-36, vzniklé modifikací prekurzoru zeolitu MCM-22, jsou již úspěšně využívány např. při Fischerově-Tropschově syntéze<sup>22</sup> nebo v acylačních reakcích s využitím aktivních enzymatických fází<sup>23</sup>.

## 2.2. Heteropolykyseliny

Heteropolykyseliny (HPA) složené z heteropolyaniontů a protonů jsou velmi silné Brønstedovy kyseliny, které vykazují i silné oxidační účinky<sup>24</sup>. V oblasti katalýzy jsou nejčastěji zmiňovány heteropolykyseliny tzv. Kegginova typu popsané obecným vzorcem XM<sub>12</sub>O<sub>40</sub><sup>x-8</sup>. X je zde centrální atom, nejčastěji Si<sup>IV</sup>, P<sup>V</sup>. M symbolizuje kovový iont (často Mo<sup>6+</sup>, W<sup>6+</sup>), který však může být nahrazen mnoha dalšími kovovými ionty jako V<sup>5+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> atd. Jejich acidobazické a redoxní vlastnosti mohou být měněny v širokém rozsahu změnou chemického složení. V acylačních reakcích jsou HPA používány ve formě roztoků, tuhé, nanesené na různých nosičích, případně ve formě solí<sup>25–28</sup>. Hlavními nevýhodami tuhých HPA je jejich nízká tepelná stabilita (okolo 350 °C) a velmi nízký specifický povrch (1–5 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>). Vhodnými nosiči, které zaručují tepelnou stabilitu, větší povrch pro reakci, snadnou izolaci a jednoduchou regeneraci, jsou především mesoporézní molekulová síta, SiO<sub>2</sub>, aktivní uhlí, případně jiné speciální nosiče<sup>29,30</sup>. Acylační reakce využívající heteropolykyseliny jako aktivní katalyzátory jsou uvedeny v tabulce III.

Tabulka III  
Acylační reakce využívající katalyzátory na bázi heteropolykyselin

Substrát	Acylační činidlo	Produkt	Katalyzátor
Veratrol	acetanhydrid	3,4-dimethoxyacetofenon	HPW/MCM-41
Anisol	acetanhydrid	4-methoxyacetofenon	HPW/ SiO <sub>2</sub>
Fenol	kyselina octová	2- a 4-hydroxyacetofenon	HPW/C a HPW/SiO <sub>2</sub>
<i>p</i> -Xylen	benzoylchlorid	2,5-dimethylbenzofenon	HSiW/SiO <sub>2</sub> a HPW/SiO <sub>2</sub>
Benzen	anhydrid kyseliny benzoové	benzofenon	HCsPW



Tabulka IV  
Příklady acylační reakcí na vybraných katalyzátorech

Substrát	Acylační činidlo	Produkt	Katalyzátor
<i>m</i> -Xylen	kyselina benzoová	2,4-dimethylbenzofenon	Bi(OTf) <sub>3</sub>
Mesitylen	kyselina benzoová	2,4,6-trimethylbenzofenon	Sc(OTf) <sub>3</sub>
2-Methoxynaftalen	acetanhydrid	2-acetyl-6-methoxynaftalen	Sb(OTf) <sub>3</sub> a Ga(OTf) <sub>3</sub>
Fluorbenzen	benzoylchlorid	4-fluorbenzofenon	Hf(OTf) <sub>4</sub> a TfOH
Anisol	kyselina benzoová	2- a 4-methoxybenzofenon	Bi(OTf) <sub>3</sub>
Toluen	anhydrid kyseliny benzoové	2-, 3-, 4-methylbenzofenon	SO <sub>4</sub> /ZrO <sub>2</sub>
Toluen	benzoylchlorid	2- a 4-methylbenzofenon	WO <sub>3</sub> /ZrO <sub>2</sub>
Anisol	benzoylchlorid	2- a 4-methoxybenzofenon	SO <sub>4</sub> /ZrO <sub>2</sub>
2-Methoxynaftalen	acetanhydrid	1-acetyl-2-methoxynaftalen	montmorilonit
Resorcinol	kyselina benzoová	2,4-dihydroxybenzofenon	montmorilonit
Anisol	benzoylchlorid	4-methoxybenzofenon	CsHPW/ montmorilonit
Benzen	benzoylchlorid	benzofenon	ZnCl <sub>2</sub> /montmorilonit
Anisol	kyselina oktanová	(4-methoxyfenyl)oktylketon	nařion, Amberlyst
2-Methoxynaftalen	acetanhydrid	1-acetyl-2-methoxynaftalen	amberlyst

### 2.3. Trifláty

Významnou skupinu katalyzátorů představují také deriváty kyseliny trifluormethansulfonové (CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H), především pak její soli (trifláty – OTf). V acylačních reakcích byla popsána zejména vysoká aktivita Sc(OTf)<sub>4</sub>, Bi(OTf)<sub>3</sub>, Zr(OTf)<sub>4</sub> a Hf(OTf)<sub>4</sub> (cit.<sup>31–35</sup>). Pro acylace benzeny byla použita kombinace Hf(OTf)<sub>4</sub> a TfOH v systému CH<sub>3</sub>NO<sub>2</sub>-LiClO<sub>4</sub> (cit.<sup>36</sup>). Z ekologického hlediska však tento systém není vhodný pro průmyslové využití. Podobný systém toluen-CH<sub>3</sub>NO<sub>2</sub> s katalyzátorem Hf(OTf)<sub>4</sub> byl použit v acylacích 1-naftolu acetylchloridem<sup>37</sup> a výtěžek 2-acetyl-1-naftolu dosahoval 90 %. Přehled acylačních reakcí katalyzovaných katalyzátory na bázi triflátů, modifikovaných ZrO<sub>2</sub>, jílu a speciálních materiálů je uveden v tabulce IV.

### 2.4. Modifikovaný ZrO<sub>2</sub>

Modifikovaný ZrO<sub>2</sub> (nejčastěji oxid impregnovaný kyselinou sírovou) je možné připravit prostým srážením nebo speciálním postupem sol-gel. K syntéze jsou využívány i povrchově aktivní látky, které podporují syntézu materiálu s větším povrchem<sup>38</sup>. V acylacích anisolu anhydridem kyseliny benzoové<sup>39–41</sup> je například tento katalytický systém aktivnější než zeolity beta nebo mordenit a výtěžky 2- a 4-methoxybenzofenonů dosahují 95 %. Nižších výtěžků (70 %) na modifikovaném ZrO<sub>2</sub> bylo dosaženo v acylacích chlorderivátu anisolu (1-methoxy-2-chlorbenzeny) anhydridem kyseliny benzoové<sup>39</sup>. Málo reaktivní chlorbenzen byl úspěšně acylován 4-nitrobenzoylchloridem<sup>42</sup> v přítomnosti modifikovaného ZrO<sub>2</sub> s výtěžkem 4-nitrobenzofenonu 40 %. Vysokých výtěžků (95 %) bylo rovněž dosaženo v acylacích anisolu anhydri-

dem kyseliny (*S*)-2-methylbutanové, kde chirální acylační skupina za podmínek běžné heterogenní reakce zůstává zachována bez známek racemizace.

### 2.5. Katalyzátory na bázi jílu

Hlavním zástupcem jílovitých katalyzátorů je montmorilonit<sup>43,44</sup>. Tento minerál, schopný pojmout velké množství vody, je pro své výrazné sorpční vlastnosti široce používán zejména v zemědělství jako aditivum do půdy. Montmorilonit v kationtové formě Fe<sup>3+</sup> je velmi aktivní při acylacích 2-methoxynaftalenu acetanhydridem na 1-acetyl-2-methoxynaftalen (výtěžek ketonu 71 %, 100 % selektivita)<sup>45</sup>. Materiály na bázi jílu jsou také vhodnými katalyzátory pro benzylace a benzoylace benzeny a toluenu v kapalně fázi. Hlavními výhodami těchto katalyzátorů je jejich nízká citlivost ke stopám vody a především možnost jejich opakovaného použití<sup>46</sup>.

### 2.6. Speciální typy katalyzátorů

#### a) Systém iontových kapalin

Iontové kapaliny jako [emim]<sup>+</sup>AlCl<sub>4</sub><sup>-</sup> ((emim)<sup>+</sup> = 1-methyl-3-ethylimidazoliový kationt) prokázaly vysokou aktivitu nejen při Friedelových-Craftsových reakcích (acylace benzeny, chlorbenzeny, toluenu a anisolu)<sup>47</sup> ale i při isomerizacích alkanů a v enzymatické katalýze<sup>48,49</sup>. Tyto soli představují novou třídu rozpouštědel vykazující neobvyklé fyzikálně-chemické vlastnosti – nehořlavost, vysokou tepelnou odolnost, neměřitelné tenze par a především výborné solvatační účinky pro celou řadu organických, anorganických a polymerních materiálů. Zajímavou alternativou je použití heterogenizovaného systému Lewisových (FeCl<sub>3</sub>) iontových kapalin v acylačních reakcích aromátů

a etherů. Nicméně imobilizace tohoto systému je spojena s jistými problémy při reakcích v kapalně fázi, kde dochází k uvolňování nanosené formy. Vhodným řešením se zdá být reakce v plynné fázi<sup>50</sup>.

#### b) Nafion, Nafion/SiO<sub>2</sub>

Nafion je syntetický polymer (sulfonovaný kopolymer tetrafluorethenu a perfluorpropylenoxidu) s vlastnostmi iontových materiálů, které získal zavedením kyselých sulfonových skupin do polymerní matrice<sup>51</sup>. Ve srovnání se standardními polymerními materiály na bázi teflonu, které se vyznačují vysokou chemickou i tepelnou odolností, je Nafion navíc vysoce iontově vodivý, velmi kyselý díky přítomnosti sulfonových skupin a vysoce permeabilní pro molekuly vody. Pro svoji vysokou kyselost je používán jako katalyzátor zejména ve výrobě farmaceutických a pesticidních prostředků<sup>52,53</sup>.

#### c) Polymery

Syntetické polymery jsou připravovány polymerizačními reakcemi a mohou být modifikovány přírodními látkami (rostlinné oleje, přírodní pryskyřice) nebo zpracovány esterifikací či hydrolyzou. Tyto jsou velmi často používány v enzymové katalýze pro syntézu speciálních sloučenin, např. asymetrických substituovaných tetrafenylporfyrinů<sup>54</sup>. Polymerní Amberlyst<sup>55</sup> s funkčními skupinami SO<sub>3</sub>H je např. využíván kromě acylačních reakcí<sup>56,57</sup> také v alkylacích, hydrogenacích a esterifikacích.

### 3. Příklady acylačních reakcí

Reaktivita substituovaného aromatického uhlovodíku je ovlivněna povahou daného substituentu. Pro acylační a alkylační reakce obecně platí, že reaktivita alkylaromatických uhlovodíků stoupá s rostoucím počtem methylových skupin<sup>58</sup>. Reakce méně aktivovaných sloučenin (benzen, chlorbenzen, fluorbenzen) jsou oproti převážně většině acylací vedených v kapalně fázi zpravidla prováděny ve fázi plynné<sup>59,60</sup>, kdy lze dosáhnout vyšších výtěžků ketonů. Zároveň však je nutné v průběhu reakce počítat s poklesem katalytické aktivity v důsledku tvorby objemných sloučenin a uhlíkatých úsad, které vznikají snadněji při reakci v plynné fázi a které snižují počet dostupných aktivních center katalyzátoru.

Acylační reakce benzenu jsou jednou z možných cest přípravy acetofenonu, který je cennou surovinou ve farmaceutickém a barvářském průmyslu, v parfumerii i ve výrobě pesticidů. Na zeolitu H-ZSM-5 je v acylacích benzenu kyselinou octovou<sup>61</sup> dosahováno konverze kyseliny octové 42 % a selektivity k acetofenonu 91 %. Rychlost acylace benzenu vztažená na koncentraci hliníku v zeolitu je jedenáctkrát vyšší v případě H-ZSM-5 než u H-mordenitu. Naopak zeolity HY a ReY jsou zcela neaktivní při této reakci. Konverzi acylačního činidla (30–43 %) je možné ovlivnit částečnou iontovou výměnou zeolitu na Na<sup>+</sup> formu, kdy katalytická aktivita klesá v důsledku snížení počtu silně kyselých Brønstedových center. Předpokládá

se, že tato centra přispívají i k následné reakci acetofenonu s kyselinou octovou a tím podporují vznik dalších nežádoucích produktů.

Benzofenon je připravován acylací benzenu anhydridem kyseliny benzoové<sup>25</sup> s výtěžky ketonu 67 % v přítomnosti katalyzátoru HCSPW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>. Katalyzátor je možné použít opakovaně, ovšem aktivita katalyzátoru po třetím použití výrazně klesá (výtěžek benzofenonu 15 %) v důsledku silné adsorpce produktů (benzofenonu a kyseliny benzoové).

Acylace toluenu deriváty kyseliny isomáselné (2-methylpropanové) byla studována jako modelová reakce prvního acylačního stupně syntézy ibuprofenu<sup>62</sup>. Autoři porovnávali katalytickou aktivitu zeolitových a mesopórních katalyzátorů spolu s katalyzátory na bázi jílu. Zároveň navrhli optimální podmínky pro produkci isopropyl-(4-methylfenyl)ketonu, při nichž je dosahováno konverze acylačního činidla (isobutyrylchloridu) 56–71 % a selektivit 78–84 % vztažených ke všem isomerům žádaného ketonu. Reakce je výrazně urychlena přidavkem vody v důsledku hydrolyzy acylačního činidla isobutyrylchloridu. Naopak přidavek produktu nebo samotné kyseliny 2-methylpropanové, která rovněž v reakci vzniká, vede ke zpomalení reakce z důvodů obsazení aktivních center objemným ketonem nebo vznikající kyselinou.

Druhým acylačním stupněm při přípravě ibuprofenu je syntéza 4-isobutylacetofenonu přímou acylací isobutylbenzenu acetanhydridem. Reakce byla studována na komerčních zeolitech beta<sup>63</sup> a iontově vyměněných (Fe<sup>3+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Ce<sup>3+</sup>) nano- a mikrokrytalických zeolitech beta<sup>64</sup>. V reakci se významně uplatňuje vnější povrch zeolitu a je proto doporučováno použití zeolitu beta s velmi malými krystaly.

Benzoylací chlorbenzenu v kapalně fázi na zeolitových katalyzátorech a na AlCl<sub>3</sub> je připravován 4,4'-dichlorbenzofenon<sup>65</sup>, který se používá při výrobě speciálních inkoustů. Byl prokázán příznivý vliv přítomnosti silných Brønstedových center na polarizaci acylačního činidla a na následnou tvorbu aktivní elektrofilní částice ClC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO<sup>+</sup>, která atakuje vlastní substrát.

Selektivní acylací *o*-xylynu deriváty kyseliny benzoové na zeolitových katalyzátorech<sup>66</sup> lze připravit 3,4-dimethylbenzofenon, důležitý meziprodukt ve výrobě barviv. Zeolity beta vykazují v této reakci konverzi benzoylchloridu 52 % a selektivitu k 3,4-dimethylbenzofenonu 95 %.

Při acylacích anisolu s použitím heteropolykyselin se ukázaly být aktivní i nenasyčené kyseliny krotonová a akrylová<sup>27</sup>. Přestože tyto kyseliny mohou působit jako alkylační i acylační činidla, výsledky ukázaly, že ve spojení s katalytickým systémem na bázi heteropolykyselin jsou nenasyčené karboxylové kyseliny aktivnější při acylační než při alkylační reakci.

Veratrol (1,2-dimethoxybenzen) lze acylovat deriváty lineárních karboxylových kyselin s různou délkou uhlíkatého řetězce<sup>67</sup> na zeolitech typu Y. Výsledky ukázaly, že pro tyto acylační reakce je důležitá přítomnost obou typů aktivních Lewisových a Brønstedových center. V porov-

nání se širokopórním zeolitem Y se středněpórním zeolitem ZSM-5 ukázal být téměř neaktivní.

Selektivní acylaci bifenyly benzoylchloridem na zeolitu beta lze připravit 4-fenylbenzofenon, používaný ve farmaceutickém průmyslu, k výrobě fungicidních přípravků i optických materiálů<sup>68</sup>. Klasické homogenní katalyzátory typu  $\text{AlCl}_3$  v porovnání se zeolitovými katalyzátory nevykazují tvarovou selektivitu a podporují spíše tvorbu 2-fenylbenzofenonu. Zeolit beta je také možné použít opakovaně, nicméně výtěžky ketonu na recyklovaném katalyzátoru jsou nižší (33 %) ve srovnání s původními výtěžky (40 %) z důvodu částečné dealuminace katalyzátoru v důsledku uvolňování chlorovodíku z acylačního činidla.

Acylované deriváty naftalenu jsou významnými meziprodukty ve vícestupňových syntézách barviv, pesticidů, vonných látek a léků. Pro reakce takto objemných molekul jsou obvykle používány širokopórní zeolity beta a Y. Zeolit beta byl studován v syntéze 2-acetylnaftalenu přímou acylací naftalenu acetanhydridem pro vonné a chuťové směsi<sup>69</sup>. Hlavním problémem přípravy 2-acetylnaftalenu je postupná deaktivace katalyzátoru. Zpomalení deaktivace lze docílit použitím přebytku naftalenu, čímž je potlačena tvorba nežádoucích objemných sloučenin, které nemohou desorbovat z kanálů zeolitu.

V syntéze naproxenu je důležitým meziproduktem 6-acetyl-2-methoxynaftalen (6-AMN), který je spolu s 1-acetyl-2-methoxynaftalem (1-AMN) připravován acylací 2-methoxynaftalenu. Tvarová selektivita zeolitů, která je určena velikostí kanálové struktury zeolitu, dovozuje vstup pouze určitých reaktantů, meziproductů a produktů<sup>70</sup> a umožňuje rozlišit mezi oběma isomery na základě jejich odlišné velikosti, je při této reakci záměrně využívána. 6-Acetyl-2-methoxynaftalen, který je méně steric-ky náročný, je přednostně vytvářen v pórech zeolitu, zatímco prostorově větší isomer 1-acetyl-2-methoxynaftalen vzniká především na vnějším povrchu katalyzátoru. Distribuce isomerů je výrazně ovlivněna i reakční teplotou. Při nižší teplotě reakční směsi je vyšší selektivita k (1-AMN) a naopak nižší selektivita k (6-AMN). Naopak při 170 °C je poměr isomerů (1-AMN) : (6-AMN) 0,2 : 86,9 a výtěžek (6-AMN) dosahuje 76,3 %. Selektivitu k žádanému prekurzoru naproxenu lze dále zvýšit pasivací vnějšího povrchu zeolitu beta. Vhodnými katalyzátory pro acylace 2-methoxynaftalenu jsou zeolity beta<sup>70</sup>, polymorf C zeolitu beta (ITQ-17)<sup>71</sup>, zeolit Y i mesopórní Zn-MCM-41 (cit.<sup>72</sup>).

Hydroxyacetofenony jsou cennými meziprodukty v přípravě léčiv<sup>3</sup>. Tyto sloučeniny jsou získávány přímou C-acylací fenolu kyselinou octovou nebo přesmykem esteru – fenylacetátu, produktu O-acylace fenolu. Vzhledem k vyšší elektronové hustotě atomu kyslíku fenolu probíhá tvorba hydroxyacetofenonu přesmykem meziproductu O-acylace. Reakce jsou studovány v plynné i kapalně fázi na molekulových sítích nejčastěji zeolitech beta<sup>73</sup> s konverzí fenolu 43–77 %.

Heterocyklické aromatické sloučeniny jako benzofuran a 2-methylbenzofuran jsou zajímavými a cennými substráty v přípravě léčiv<sup>74,75</sup>. Acylace těchto látek byly

studovány v kapalně fázi na zeolitu ZSM-5 a byly dosaženy konverze heteroaromátů až 95 % a selektivity k monoacylovaným derivátům 70–84 %. Za studovaných podmínek<sup>74</sup> jsou v reakční směsi přítomny vyjma monoacylovaných produktů i produkty vícestupňové acylace.

Z roku 1947 pocházejí zmínky o acylacích thiofenu acetylchloridem na montmorillonitu (K10)<sup>3</sup>. V současné době jsou zkoumány selektivní acylace thiofenu na 2-acetylthiofen s výtěžky ketonu až 62 % na zeolitech beta, a to v kapalně i plynně fázi. V acylacích thiofenu butyrylchloridem na zeolitových molekulových sítích<sup>76</sup> (H-ZSM-5, H-mordenit, H-Y, H-USY) byl studován především podrobný vliv typu vlastního aktivního centra katalyzátoru na složení produktů. Na rozdíl od výsledků a závěrů Cormy<sup>77</sup> byla potvrzena přímá korelace mezi počáteční reakční rychlostí acylace a počtem Lewisových center. Rozdíl v reaktivitě zeolitů je zde připisován právě různé koncentraci Lewisových center.

#### 4. Závěr

Acylační reakce představují klíčový stupeň syntézy aromatických ketonů. Významných úspěchů v acylačních reakcích bylo docíleno v posledních letech zejména s použitím heterogenních katalyzátorů na bázi molekulových sítí, které vyjma vysoké aktivity, tepelné stability a tvarové selektivity jsou také nezávadné pro životní prostředí. Navíc je možné tyto katalyzátory použít v reakci opakovaně, neboť jejich izolace z reakční směsi, na rozdíl od klasických homogenních katalyzátorů ( $\text{AlCl}_3$ ,  $\text{ZnCl}_2$ ) není spojena s jejich destrukcí a ztrátou. Ačkoli je značné úsilí v řešení problémů současné heterogenní katalýzy věnováno studiu a syntézám nových typů katalyzátorů, zbývá vyřešit ještě mnoho nedostatků plynoucích z použití těchto materiálů. Je nutné se zaměřit na efektivní využití heterogenních katalyzátorů, na optimalizaci podmínek jejich reaktivace a podrobné studium deaktivčních procesů.

*Tato práce byla uskutečněna s finanční podporou Grantové agentury České republiky (203/03/0840) a Grantové agentury Akademie věd České republiky (B4040402).*

#### LITERATURA

1. Szmant H.: *Organic Building Blocks of the Chemical Industry*. Wiley, New York 1989.
2. Shanmugapriya K., Saravanamurugan S., Palanichamy M., Arabindoo B., Murugesan V.: *J. Mol. Catal., A*. 223, 177 (2004).
3. Simons K., Griffin K., v knize: *Fine Chemicals through Heterogeneous Catalysis* (Sheldon R. A., van Bekkum H. ed.), kap. 4.4., Wiley, New York 2001.
4. Spagnol M., Gilbert L., Benazzi E., Marcilly C.: *WO* 96/35655 1996.

5. Sheldon R. A.: *Chem. Ind.* 7, 903 (1992).
6. Harrington P. J., Lodewijk E.: *Org. Process Res. Dev.* 1, 72 (1997).
7. Čejka J., Žilková N.: *Chem. Listy* 94, 278 (2000).
8. Corma A.: *J. Catal.* 216, 298 (2003).
9. Kato M., Nishido H.: *Microporous Mesoporous Mater.* 61, 261 (2003).
10. Čejka J.: *Chem. Listy* 92, 13 (1998).
11. Cambor M. A., Barrett P. A., Díaz-Cabañas M.-J., Villaescusa L. A., Puche M., Boix T., Pérez E., Koller H.: *Microporous Mesoporous Mater.* 48, 11 (2001).
12. Yadav G. D., Krishnan M. S.: *Chem. Eng. Sci.* 54, 4189 (1999).
13. Moreau P., Finiels A., Meric P.: *J. Mol. Catal., A* 154, 185 (2000).
14. Shih P.-C., Wang J.-H., Mou C.-Y.: *Catal. Today* 93, 365 (2004).
15. Corma A.: *Chem. Rev.* 97, 2373 (1997).
16. Kadgaonkar M. D., Laha S. C., Pandey R. K., Kumar P., Mirajkar S. P., Kumar R.: *Catal. Today* 97, 225 (2004).
17. Udayakumar S., Pandurangan A., Sinha P. K.: *J. Mol. Catal., A* 216, 121 (2004).
18. Gunnewegh E. A., Gopie S. S., van Bekkum H.: *J. Mol. Catal., A* 106, 151 (1996).
19. Laha S. C., Mukherjee P., Sainkar S. R., Kumar R.: *J. Catal.* 207, 213 (2002).
20. Choudhary V. R., Jana S. K., Patil N. S.: *Tetrahedron Lett.* 43, 1105 (2002).
21. Choudhary V. R., Jana S. K., Kiran B. P.: *J. Mol. Catal., A* 192, 257 (2000).
22. Ravishankar R., Li M. M., Borgna A.: *Catal. Today* 106, 149 (2005).
23. Dumitriu E., Secundo F., Patarin J., Fechete I.: *J. Mol. Catal., B* 22, 119 (2003).
24. Kozhevnikov I. V.: *Chem. Rev.* 98, 171 (1998).
25. Izumi Y., Ogawa M., Urabe K.: *Appl. Catal., A* 132, 127 (1995).
26. Tagawa T., Amemiya J., Goto S.: *Appl. Catal., A* 257, 1, 19 (2004).
27. DeCastro C., Primo J., Corma A.: *J. Mol. Catal., A* 134, 215 (1998).
28. DeCastro C., Corma A., Primo J.: *J. Mol. Catal., A* 177, 273 (2002).
29. Cardoso L. A. M., Alves W., Gonzaga A. R. E., Aguiar L. M. G., Andrade H. M. C.: *J. Mol. Catal., A* 209, 189 (2004).
30. Yadav G. D., Asthana N. S., Kamble V. S.: *J. Catal.* 217, 88 (2003).
31. Greenwald R. B., Pendri A., Hong Z.: *Tetrahedron: Asymmetry* 9, 915 (1998).
32. Fawcett J., Platt A. W. G., Russell D. R.: *Polyhedron* 21, 287 (2002).
33. Desmurs J. R., Roux L. C. L., Gaspard H., Laporterie A., Dubac J.: *Tetrahedron Lett.* 38, 8871 (1997).
34. Dumeunier R., Markó I. E.: *Tetrahedron Lett.* 45, 825 (2004).
35. Kobayashi S., Iwamoto S.: *Tetrahedron Lett.* 39, 4697 (1998).
36. Matsushita Y., Sugamoto K., Matsui T.: *Tetrahedron Lett.* 45, 4723 (2004).
37. Kobayashi S., Moriwaki M., Hachiya I.: *Tetrahedron Lett.* 37, 2053 (1996).
38. Terribile D., Trovarelli A., Llorca J., Leitenburg C., Dolcetti G.: *Catal. Today* 43, 79 (1998).
39. Deutsch J., Trunschke A., Müller D., Quaschnig V., Kemnitz E., Lieske H.: *J. Mol. Catal., A* 207, 51 (2004).
40. Deutsch J., Quaschnig V., Kemnitz E., Auroux A., Ehwald H., Lieske H.: *Top. Catal.* 13, 281 (2000).
41. Trunschke A., Deutsch J., Müller D., Lieske H., Quaschnig V., Kemnitz E.: *Catal. Lett.* 83, 271 (2002).
42. Deutsch J., Trunschke A., Müller D., Quaschnig V., Kemnitz E., Lieske H.: *Catal. Lett.* 88, 9 (2003).
43. Bolognini M., Cavani F., Cimini M., Pozzo L., Maselli L., Venerito D., Pizzoli F., Veronesi G.: *C. R. Chim.* 7, 43 (2004).
44. Choudhary V. R., Jana S. K., Patil N. S.: *Catal. Lett.* 76, 235 (2001).
45. Choudary B. M., Sateesh M., Kantam M. L., Prasad K. V. R.: *Appl. Catal., A* 171, 155 (1998).
46. Choudhary V. R., Jana S. K., Mandale A. B.: *Catal. Lett.* 74, 95 (2001).
47. Adams Ch. J., Earle M. J., Roberts G., Seddon K. R.: *Chem. Commun.* 2097 (1998).
48. Irimescu R., Kato K.: *J. Mol. Catal., B* 30, 189 (2004).
49. Kim M. J., Choi M. Y., Lee J. K., Ahn Y.: *J. Mol. Catal., B* 26, 115 (2003).
50. Valkenberg M. H., Castro C., Holderich W. F.: *Appl. Catal., A* 215, 185 (2001).
51. Zhou D. Q., Zhang Y.-H., Huang M.-Y., Jiang Y.-Y.: *Polym. Adv. Technol.* 14, 360 (2003).
52. Heidekum A., Harmer M. A., Hoelderich W. F.: *J. Catal.* 188, 230 (1999).
53. Beers A. E. W., Nijhuis T. A., Kapteijn F., Moulijn J. A.: *Microporous Mesoporous Mater.* 48, 279 (2001).
54. Shi B., Scobie M., Boyle R. W.: *Tetrahedron Lett.* 44, 5083 (2003).
55. Sigma Aldrich, Technical Information Bulletin, Number AL-142, Ion-Exchange Resins and Related Polymeric Adsorbents (2004).
56. Harmer M. A., Sun Q.: *Appl. Catal., A* 221, 45 (2001).
57. Yadav G. D., Mujeebur Rahuman M. S. M.: *Ultrason. Sonochem.* 10, 138 (2003).
58. Pandey A. K., Singh A. P.: *Catal. Lett.* 44, 129 (1997).
59. Padró C. L., Apesteguía C. R.: *J. Catal.* 226, 308 (2004).
60. Reddy P. R., Subrahmanyam M., Kumari V. D.: *Catal. Lett.* 61, 207 (1999).
61. Singh A. P., Pandey A. K.: *J. Mol. Catal., A* 123, 141 (1997).
62. Klisáková J., Červený L., Čejka J.: *Appl. Catal., A*

- 272, 79 (2004).
63. Andy P., Garcia-Martinez J., Lee G., Gonzalez H., Jones C. W., Davis M. E.: *J. Catal.* 192, 215 (2000).
  64. Choudary B. M., Sateesh M., Kantam M. L., Ranganath K. V. S., Raghavan K. V.: EP 1 138 662 (2001).
  65. Venkatesan C., Jaimol T., Moreau P., Finiels A., Ramaswamy A. V., Singh A. P.: *Catal. Lett.* 75, 119 (2001).
  66. Jacob B., Sugunan S., Singh A. P.: *J. Mol. Catal., A* 139, 43 (1999).
  67. Bigi F., Carloni S., Flego C., Maggi R., Mazzacani A., Rastelli M., Sartori G.: *J. Mol. Catal., A* 178, 139 (2002).
  68. Chidambaram M., Venkatesan C., Moreau P., Finiels A., Ramaswamy A. V., Singh A. P.: *Appl. Catal., A* 224, 129 (2002).
  69. Červený L., Mikulcová K., Čejka J.: *Appl. Catal., A* 223, 65 (2002).
  70. Fromentin E., Coustard J.-M., Guisnet M.: *J. Mol. Catal., A* 159, 377 (2000).
  71. Botella P., Corma A., Navarro M. T., Rey F., Sastre G.: *J. Catal.* 217, 406 (2003).
  72. Bezouhanová C. P.: *Appl. Catal., A* 229, 127 (2002).
  73. Rohan D., Canaff C., Magnoux P., Guisnet M.: *J. Mol. Catal., A* 129, 69 (1998).
  74. Richard F., Carreyre H., Pérot G.: *J. Catal.* 159, 427 (1996).
  75. Kantam M. L., Ranganath K. V. S., Sateesh M., Kumar K. B. S., Choudhary B. M.: *J. Mol. Catal., A* 225, 15 (2005).
  76. Isaev Y., Fripiat J. J.: *J. Catal.* 182, 257 (2002).
  77. Corma A., Climent M. J., Garcia H., Primo J.: *Appl. Catal.* 49, 109 (1989).
  78. Červinka O., Dědek V., Ferles M.: *Organická chemie*. SNTL, Praha 1982.
  79. Černý J. V., Černý M., Paleček M., Procházka M.: *Organická synthesa*. Academia, Praha 1971.
  80. Ma Y., Wang Q. L., Jiang W., Zuo B.: *Appl. Catal., A* 165, 199 (1997).
  81. Gunnewegh E. A., Downing R. S., van Bekkum H.: *Zeolites* 447 (1995).

**J. Mayerová** (*J. Heyrovsky Institute of Physical Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*): **Heterogenous Catalysts for Acylation Reactions**

The paper provides an overview of various heterogenous catalysts used in acylation reactions. The reactions are an important and efficient tool in organic chemistry for preparation of aromatic ketones, which are at present prominent intermediates in production of fine chemicals such as pharmaceuticals, agrochemicals, dyes, pesticides, and perfumes. The advantages and drawbacks of various types of heterogenous catalysts are discussed and related to the properties of homogenous catalysts employed for the same type of reactions. The effects of the used substrates, acylation agents and catalysts on activities and selectivities in acylation reactions are discussed. Special attention is paid to shape-selective properties of molecular sieve catalysts.

## LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

### CHOVÁNÍ PRVKŮ PŘI SPALOVÁNÍ UHLÍ – POROVNÁNÍ JEJICH OBSAHŮ V NEDOPALU, UHLÍ A POPELU

LUCIE BARTOŇOVÁ

*Katedra analytické chemie a zkoušení materiálů, Fakulta metalurgie a materiálového inženýrství, VŠB-Technická univerzita Ostrava, Tř. 17. listopadu 15, 708 33 Ostrava – Poruba  
lucie.bartonova@vsb.cz*

Došlo 23.5.05, přepracováno 23.9.05, přijato 4.11.05.

Klíčová slova: spalování uhlí, stopové prvky, nedopal, popel, obohacení, těkavost

#### Obsah

1. Úvod
2. Spalovací zařízení, vzorky a metody
3. Porovnání obsahů prvků v nedopalu, uhlí a popelu
  - 3.1. Výpočet a způsob vyhodnocení
  - 3.2. Chování jednotlivých prvků
4. Závěr

#### 1. Úvod

V průběhu spalování uhlí jsou prvky původně obsažené v uhlí (příp. i aditivu) přerozdělovány mezi popel, popílek a emise. Vzhledem k obrovskému množství produktů spalování, které je každým rokem produkováno, a také z důvodu potenciální ekologické závažnosti těchto materiálů, je velká pozornost již řadu let věnována právě problému přerozdělování stopových prvků mezi jednotlivé produkty spalování<sup>1–3</sup>.

Za účelem kvantitativního popisu míry přerozdělení prvků v průběhu spalovacího procesu bylo dosud navrženo a použito v zásadě několik postupů.

Jednou z možností, jak popsat přerozdělení prvků při spalování uhlí, je bilanční metoda, jejímž základem je vyjádření podílů jednotlivých prvků (z jejich vstupního množství), které se přerozdělily do popela, popílku a emise. Tento postup používají např. Martel a Rentz<sup>4</sup>, Klika a spol.<sup>5</sup> nebo Klein a spol.<sup>6</sup>

Jiným možným přístupem je vyjádření obohacení / ochuzení prvků v produktech spalování ve srovnání

s původním uhlím. Vzhledem k tomu, že mnoho prvků je obsaženo v pevných produktech spalování v podobném relativním zastoupení (vzhledem k anorganickému podílu) jako ve spalovaném uhlí, ale kvůli vyhoření organické části uhlí (a např. úniku CO<sub>2</sub> z uhličitánů atd.) jsou jejich obsahy v popelech vyšší, byly pro názornější popis redistribuce prvků zavedeny některé veličiny zohledňující tuto skutečnost.

Clarke<sup>7</sup> vyjadřuje chování prvků pomocí faktoru obohacení EF (Enrichment factor). Nejprve jsou obsahy prvků v uhlí, popelu či popílku vztaženy na stejný obsah vhodně zvoleného prvku, o kterém se obecně předpokládá jeho netěkavé chování (např. Al, Si či jiné lithofilní prvky). Nejčastěji se naměřené obsahy prvků ve studovaných materiálech dělí obsahem Al v těchto vzorcích. Hodnota EF daného prvku v popelu či popílku se pak získá jako podíl jeho přepočtených obsahů v popelu (či popílku) a v uhlí.

Meij a spol.<sup>8</sup> zavedl veličinu zvanou relativní obohacení RE (Relative enrichment). Podobně jako Clarke<sup>7</sup> nejprve normalizuje obsahy prvků ve studovaných materiálech na srovnatelné složení, v tomto případě jsou obsahy prvků děleny obsahem popela ( $A^d$ ) ve vzorku. Hodnotu RE lze pak získat jako podíl těchto obsahů (přepočtených na stejnou hodnotu  $A^d$ ) v popelu (či popílku) a v uhlí.

V obou těchto případech se porovnávají vypočtené hodnoty EF nebo RE pro jednotlivé prvky v popelu a popílku. Pokud pro daný prvek, např. v popelu, je získán EF či RE menší než 1, takový prvek je v popelu ochuzen (ve srovnání s uhlím). Naopak pokud jsou hodnoty EF či RE vyšší než 1, prvek je v daném materiálu obohacen ve srovnání s uhlím. Pro těkavé prvky je typické ochuzení v popelu v důsledku vytěkání z uhelné částice v průběhu spalování. Jestliže u těchto volatilizovaných prvků nedojde k následné kondenzaci / sorpci ještě před průchodem kouřového plynu odlučovacím zařízením, jsou v plynné fázi emitovány do atmosféry.

Tento příspěvek je zaměřen na hodnocení chování prvků při spalování uhlí ve dvou elektrárnách s cirkulující fluidní vrstvou, při společném spalování uhlí s odpadními materiály a při spalování dvou vzorků uhlí v pilotní spalovací jednotce simulující malá lokální topeniště. Vzhledem k tomu, že dosud bylo chování prvků v ohništi hodnoceno především pomocí obsahů prvků v uhlí a popelu, tento příspěvek přináší nový pohled na studovanou problematiku studiem částic nedopalu – organické nespálené části uhlí přítomné v popelech. Hodnocení chování prvků v uvedených spalovacích zařízeních je zde založeno na porovnání obsahů prvků v uhlí, nedopalu (vyseparovaném z popela) a popelu, čímž je možné sledovat postupné vyhořívání uhelné částice přes nedopal až po konečný produkt spalování – popel.

## 2. Spalovací zařízení, vzorky a metody

Práce je zaměřena na studium obohacení / ochuzení vybraných prvků v nedopalu oproti uhlí a popelu pro dvě elektrárny s cirkulující fluidní vrstvou (Poříčí a Tisová), pro Energetiku Štětí, kde bylo spalováno hnědé uhlí s odpadními materiály a pro pilotní spalovací jednotku simulující spalování uhlí v malých domácích topeništích.

V elektrárně Poříčí bylo spalováno černé uhlí při teplotě asi 850 °C; podobně v elektrárně Tisová bylo spalováno hnědé uhlí při stejné teplotě. V každé z těchto elektráren byly najety dva výkony kotle – základní (40 %) a plný (100 %). Podrobněji jsou podmínky spalování popsány v našem předcházejícím příspěvku<sup>9</sup>.

V Energetice Štětí byla provedena dvě spalování hnědého uhlí s odpadními materiály. Při testu 1 byla k uhlí přidávána směs kůry a dřevní hmoty, při testu 2 bylo spalováno hnědé uhlí s kůrou, dřevní hmotou, biologickými kaly, odpadními plasty, textiliemi a papírem. Spalování v obou případech probíhalo ve fluidním ohništi při teplotě asi 870 °C.

Základem pilotní spalovací jednotky instalované na VŠB-TU v Ostravě jsou kamna Fikoherm 2U4P určená pro lokální vytápění s výkonem 4 kW. Spalována byla dvě hnědá uhlí s odlišným obsahem popela.

Při uvedených spalovacích testech byly odebrány vždy vzorky popela a původního spalovaného uhlí. Pokud bylo uhlí spalováno společně s odpady, byly rovněž odebrány. Z popela byly ručně vyseparovány částice nedopalu.

Všechny tyto vzorky byly podrobeny prvkové analýze na rentgenovém fluorescencním spektrometru (Spectro X-lab) metodou lisování pelet s mikromletým voskem. Odpadní materiály byly před vlastní analýzou převedeny na nízkoteplotní popel, který byl dále analyzován stejným způsobem. Rtuť byla ve všech vzorcích měřena na jednoúčelovém spektrometru AMA 254.

## 3. Porovnání obsahů prvků v nedopalu, uhlí a popelu

### 3.1. Výpočet a způsob vyhodnocení

Za účelem detailnějšího porozumění chování prvků v průběhu spalování uhlí byla pozornost věnována obsahům studovaných prvků v nedopalu, který byl ručně vyseparován z popela. Cílem tohoto příspěvku bylo porovnat obsahy vybraných prvků v nedopalu s jejich obsahy v popelu a uhlí.

Vzhledem ke skutečnosti, že vzorky uhlí, nedopalu a popela mají výrazně odlišné hodnoty popelnatosti  $A^d$ , byly původní naměřené obsahy prvků normalizovány na stejný obsah popela ( $A^d = 100\%$ ). Výpočet byl proveden podle rov. (1–3), kde  $w_U$ ,  $w_P$  a  $w_N$  jsou původní naměřené hodnoty obsahu prvku v uhlí, popelu a nedopalu, zatímco hodnoty  $W$  udávají přepočtené obsahy prvků ve stejných materiálech.

$$W_U = 100 \cdot \frac{w_U}{A_U^d} \quad (1)$$

$$W_N = 100 \cdot \frac{w_N}{A_N^d} \quad (2)$$

$$W_P = 100 \cdot \frac{w_P}{A_P^d} \quad (3)$$

Přepočtené hmotnostní zlomky studovaných prvků v uhlí (příp. vstupní spalované směsi), nedopalu a popelu a hodnoty popelnatosti těchto materiálů ( $A^d$ ) jsou uvedeny v tab. I.

Porovnání takto přepočtených obsahů prvků v uhlí, nedopalu a popelu bylo provedeno graficky, což umožnilo kromě základního porovnání navíc také získat celkový přehled o chování prvků během postupného vyhořívání uhelné částice (přes zrno nedopalu až po konečný produkt spalování – popel).

Pro jednotlivé studované prvky byly jejich normalizované obsahy v uhlí, nedopalu i popelu vyneseny proti  $A^d$  hodnotám těchto vzorků pro všechny uvedené spalovací jednotky. Způsob vyhodnocení je podrobněji znázorněn na obr. 1a, kde je vyneseno chování Cl při dvou spalovacích testech v pilotní spalovací jednotce. Každé z těchto dvou spalování je reprezentováno trojicí bodů – hodnot pro uhlí (U), nedopal (N) a popel (P). Vzhledem k nárůstu obsahu popela u studovaných materiálů v řadě uhlí–nedopal–popel je vždy nejvíce vlevo umístěna hodnota pro uhlí, uprostřed pro nedopal a vpravo pro popel. Změnu charakteru vzorku v průběhu spalování původního uhlí až na konečný produkt – popel – přibližně reprezentuje spojnice mezi hodnotou vynesenu pro uhlí a pro popel (na obr. 1a znázorněna přerušovanou čarou). Tato přímková má (nejen v tomto případě) klesající charakter, což naznačuje ochuzení prvků v popelu vzhledem k uhlí (i po přepočtení na  $A^d$ ). Na této přímkě byl pro lepší názornost vyneseno rovněž teoretický obsah Cl v nedopalu ( $N'$ ), který by odpovídal postupnému trendu vyhořívání uhelné částice. Jak vyplývá z obr. 1a, skutečná hodnota pro obsah Cl v nedopalu (N) je však v tomto případě výrazně nižší, z čehož lze usuzovat na ochuzení Cl v nedopalu v porovnání s celkovým trendem vyhořívání uhelné částice. Takové chování je typické pro těkavé prvky. Pro prvky netěkavé je naopak časté umístění skutečného obsahu prvku nad teoretickou hodnotou, a lze tudíž usuzovat na obohacení (pouze v tomto smyslu) daného prvku v nedopalu, i když jeho normalizovaný obsah v nedopalu může být např. nižší než v uhlí. Takové obohacení může být způsobeno buď zpětnou sorpcí prvků na částici nedopalu nebo odtěkáním většího množství jiných látek, čímž dojde k navýšení obsahu studovaného prvku. A konečně – bude-li skutečná hodnota pro nedopal umístěna přibližně na spojnici hodnot pro uhlí a popel, pak lze usuzovat na plynulé postupné vytěkávání daného prvku z uhlí přes nedopal až po konečný produkt – popel. Takový prvek pak vykazuje průměrnou těkavost.

Tabulka I

Obsahy popela  $A^d$  (%) a hmotnostní zlomky studovaných prvků W přepočtené na obsah popela  $A^d = 100$  % pro uhlí (U), nedopal (N) a popel (P). Obsahy S jsou uvedeny v %, ostatních prvků v ppm.

	Energetika Štětí						Pilotní jednotka VŠB					
	Test 1			Test 2			Test 1			Test 2		
	U <sup>a</sup>	N	P	U <sup>a</sup>	N	P	U	N	P	U	N	P
$A^d$	24,5	62,3	98,9	26,4	65,5	99,0	14,8	27,0	73,8	8,3	35,2	68,9
S	2,7	2,8	2,8	2,1	2,1	2,1	13,0	7,3	2,8	19,5	5,5	2,8
Cl	1523,2	708,2	1020,9	1064,3	618,4	903,6	2011,5	1437,9	428,5	4377,7	751,6	1221,2
Cr	115,6	147,3	86,4	83,4	141,1	93,1	304,5	308,1	232,0	193,0	148,7	181,1
V	211,7	307,9	160,2	154,5	245,5	141,2	644,1	563,1	611,2	473,2	369,6	447,6
Co	18,9	18,5	6,8	20,1	17,6	6,7	49,4	46,0	47,1	111,4	32,7	53,5
Ni	54,8	81,6	43,1	40,1	55,0	30,5	86,6	87,2	81,1	182,8	83,9	160,0
Cu	59,0	80,8	51,3	50,4	84,6	46,3	583,9	371,4	373,9	424,9	139,7	222,1
Zn	181,6	121,3	138,5	164,9	68,7	94,2	61,6	55,7	55,1	188,8	52,6	94,3
As	290,9	193,5	252,5	134,5	107,0	116,3	392,4	416,7	361,1	1530,3	736,8	731,0
Se	3,7	2,2	0,8	2,5	1,5	0,9	4,7	4,1	1,8	13,3	5,7	1,0
Pb	43,6	47,0	37,5	33,8	52,2	28,3	48,0	37,1	23,6	92,0	33,6	36,3
Hg	0,756	0,128	0,002	0,981	0,458	0,002	0,406	0,297	0,014	0,363	0,028	0,015

<sup>a</sup> Uvedeno průměrné složení vstupní spalované směsi uhlí s odpadními materiály

	Elektrárna Poříčí						Elektrárna Tisová					
	40% výkon			100% výkon			40% výkon			100% výkon		
	U	N	P	U	N	P	U	N	P	U	N	P
$A^d$	31,7	72,4	98,6	31,7	37,4	97,9	29,9	61,7	92,9	26,8	52,7	92,4
S	1,6	0,7	1,1	1,6	1,1	1,1	4,5	1,3	3,3	5,0	1,5	3,4
Cl	1099,2	255,8	216,0	1099,2	736,5	197,2	358,2	264,4	169,9	578,4	311,3	204,5
Cr	132,7	122,9	90,7	132,7	164,4	90,0	180,8	185,5	95,3	209,0	203,6	106,3
V	284,9	292,6	137,9	284,9	365,0	117,5	826,9	693,9	293,9	891,8	942,1	299,8
Co	28,4	23,5	14,6	28,4	31,3	14,5	39,5	33,6	13,1	30,2	31,0	10,9
Ni	107,7	89,4	58,1	107,7	116,8	49,5	97,1	86,4	34,4	100,7	103,3	37,9
Cu	135,8	118,0	94,2	135,8	203,4	92,9	689,7	615,4	214,9	694,0	1040,1	196,9
Zn	249,5	91,9	171,4	249,5	116,5	127,7	144,0	181,3	65,3	156,7	205,1	63,8
As	22,4	8,0	17,6	22,4	15,0	9,6	50,2	36,3	24,4	52,2	23,6	26,0
Se	3,8	2,1	0,7	3,8	2,7	0,7	16,4	7,1	1,1	16,4	9,1	1,3
Pb	122,2	48,1	81,1	122,2	117,6	53,8	36,8	43,1	18,6	36,2	49,4	18,3
Hg	0,411	0,152	0,004	0,411	0,267	0,006	2,377	0,099	0,005	5,896	0,021	0,005

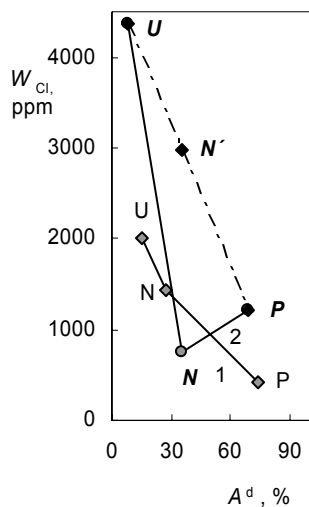
### 3.2. Chování jednotlivých prvků

Chování Cl v pilotní spalovací jednotce je znázorněno na obr. 1a, pro velké fluidní elektrárny (Poříčí, Tisová a Štětí) je totéž vyneseno na obr. 1b. Přímkou znázorňující teoretické vyhořívání uhelné částice je kvůli popisu metody vyhodnocení znázorněna pouze na obr. 1a (pro pilotní spa-

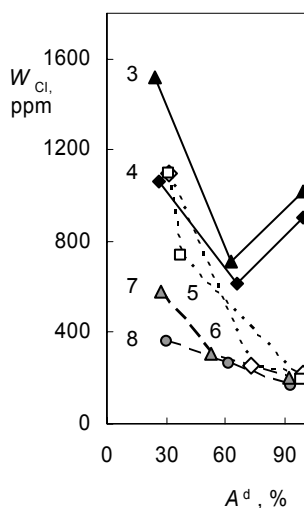
lování – test 2). U dalších spalovacích testů již z důvodu přehlednosti byla vypuštěna. Z obr. 1a,b vyplývá, že chování Cl bylo ve všech zde studovaných jednotkách těkavého charakteru, jelikož skutečné obsahy Cl v nedopalu byly nižší než hodnoty teoretické. V podstatě totožné závěry byly zjištěny také u dalších těkavých prvků – u S, Se, As a Hg.



a

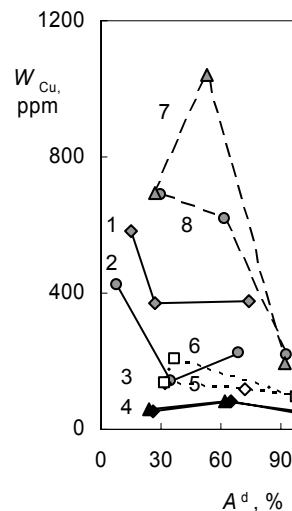


b



Obr. 1. Přepočtené obsahy Cl v uhlí (U), nedopalu (N) a popelu (P) v závislosti na hodnotách popelnatosti  $A^d$  těchto materiálů; a) pilotní spalovací jednotka, b) fluidní elektrárny; 1 – pilotní spalování test 1, 2 – pilotní spalování test 2, 3 – společné spalování uhlí s odpady test 1, 4 – společné spalování uhlí s odpady test 2, 5 – elektrárna Poříčí 40 % výkon, 6 – elektrárna Poříčí 100% výkon, 7 – elektrárna Tisová 40 % výkon, 8 – elektrárna Tisová 100% výkon.

Normalizované obsahy Cu v uhlí, nedopalech a popelech jsou pro všechny spalovací jednotky vyneseny v obr. 2 (z důvodu přehlednosti již bez pomocných přímk). Z obr. 2 je zřejmé, že zatímco v pilotní spalovací jednotce simulující malá lokální topeniště vykazovala Cu chování výrazně těkavé, ve velkých spalovacích zařízeních docházelo k jejímu obohacení na nedopalu, tj. pozorováno



Obr. 2. Přepočtené obsahy Cu v uhlí, nedopalu a popelu v závislosti na hodnotách popelnatosti  $A^d$  těchto materiálů; 1 – pilotní spalování test 1, 2 – pilotní spalování test 2, 3 – společné spalování uhlí s odpady test 1, 4 – společné spalování uhlí s odpady test 2, 5 – elektrárna Poříčí 40 % výkon, 6 – elektrárna Poříčí 100% výkon, 7 – elektrárna Tisová 40 % výkon, 8 – elektrárna Tisová 100% výkon

bylo chování netěkavé. Totéž bylo zjištěno také pro V.

Netěkavé chování ve velkých elektrárnách v kombinaci s těkavějším chováním v pilotní spalovací jednotce je typické také pro Cr, Co a Ni. Jedinou odlišností od závěrů získaných pro Cu a V bylo chování při spalování hnědého uhlí s vyšším obsahem popela (test 1) v pilotní spalovací jednotce. Zde Cu a V byly stejně těkavé jako u uhlí s nižším obsahem popela (test 2), zatímco těkavost Cr, Co a Ni byla u uhlí s vyšším obsahem popela výrazně nižší. Tato skutečnost pravděpodobně souvisí s jiným typem vazby (výskytu) Cr, Co a Ni v obou hnědých uhlích. Snížená těkavost těchto prvků při spalování uhlí s vyšším obsahem popela může souviset např. s větším podílem jejich vazby v jílových minerálech, kdy dostatečně pevná vazba snižuje možnost vytékání prvků z uhelné částice.

Do žádné z uvedených skupin nebylo možné zařadit chování Pb a Zn. Normalizované obsahy Zn v uhlí, nedopalech a popelech prokázaly netěkavé chování tohoto prvku pouze v elektrárně Tisová (při obou výkonech kotle). V ostatních spalovacích jednotkách byl Zn v nedopalu více či méně ochuzen, tzn. vykazoval průměrnou až vyšší těkavost.

Chování Pb bylo ze všech zde studovaných prvků nejvíce závislé na typu spalovaného uhlí, výkonu kotle a typu spalovacího zařízení. Při spalování hnědých uhlí ve fluidních elektrárnách (Tisová a Štětí) bylo zjištěno chování netěkavé. V elektrárně Poříčí při spalování černého uhlí bylo při 40% výkonu kotle zjištěno výrazně těkavé chování.

ní, při 100% výkonu kotle byla těkavost Pb dána v podstatě chováním minerální hmoty jako celku. Z uvedeného vyplývá, že delší časový interval ve fluidní vrstvě, který byl pro uhelnou částici k dispozici při 40 % výkonu (ve srovnání se 100% výkonem kotle) byl příznivější pro vytékání tohoto prvku z uhlé zrna. V pilotní spalovací jednotce byly pro Pb zjištěny podobné závěry, jako u Cr, Co a Ni, tzn. při spalování uhlí s nižším obsahem popela (test 2) vykazovalo Pb těkavější chování.

#### 4. Závěr

Prvky S, Se, Cl, Hg a As vykazovaly u všech spalovacích zařízení chování těkavé (nebyly obohaceny na nedopalu ve srovnání s celkovým trendem vyhořívání uhlé částice). Toto zjištění je v souladu se závěry z literatury získanými jinými metodami<sup>6,7</sup>.

U Cu, V, Co, Ni a Cr bylo zjištěno u všech velkých provozních spalovacích zařízení (elektráren) chování netěkavé (tzn. tyto prvky byly obohaceny v částicích nedopalu ve srovnání s celkovým trendem vyhořívání uhlé částice). Chování těchto prvků v pilotní jednotce simulující malá lokální topeniště bylo obecně ve srovnání s elektrárnami těkavější, i když často záviselo na typu spalovaného uhlí.

Zn vykazoval netěkavé chování ze všech spalovacích jednotek pouze u elektrárny Tisová, kde bylo spalováno hnědé uhlí. V ostatních spalovacích zařízeních bylo jeho chování těkavého charakteru.

Chování Pb bylo ze všech prvků nejvíce závislé na typu spalovaného uhlí, na použité spalovací jednotce i výkonu kotle v rámci stejné elektrárny.

*Autorka děkuje Grantové agentuře České republiky za finanční podporu projektem GA ČR 105/03/D219.*

#### LITERATURA

- Huffman G. P., Huggins F. E., Shah N., Shah A.: *Prog. Energy Combust. Sci.* 16, 243 (1990).
- Karatepe N., Hayriki-Acma H., Ersoy-Mericboyu A., Küçükbyrak S.: *Energy Sources* 19, 433 (1997).
- Galbreath K. C., Toman D. L., Zygarlicke CH. J., Pavlish J. H.: *Energy Fuels* 14, 1265 (2000).
- Martel Ch., Rentz O.: *Proceedings of the 23rd International Technical Conference on Coal Utilization and Fuel Systems: Comprehensive analysis of heavy metal streams in pulverized coal-fired boilers taking into account different operating conditions*, s. 987. Clearwater 1998.
- Klika Z., Bartoňová L., Roubíček V., Kolat P.: *Sborník vědeckých prací VŠB-TU Ostrava* 1, 79 (1999).
- Klein D. H., Andren A. W., Carter J. A., Emery J. F., Feldman C., Fulkerson W.: *Environ. Sci. Technol.* 9, 973 (1975).
- Clarke L. B., Sloss L. L.: *Trace Element Emissions from Coal Combustion and Gasification*. 153 s. IEA Coal Research Report, IEACR/49, London 1992.
- Meij R., v knize: *Environmental Aspects of Trace Elements in Coal* (Swaine D. J., Goodarzi F., ed.), str. 111–126. Kluwer Academic Publishers, London 1995.
- Klika Z., Bartoňová L., Spears D. A.: *Fuel* 80, 907 (2001).

**L. Bartoňová** (*Department of Analytical Chemistry and Materials Testing, Faculty of Metallurgy and Materials Engineering, Technical University, Ostrava*): **Element Behaviour in Coal Combustion – Comparison of Element Contents in Unburnt Carbon, Coal and Bottom Ash**

The behaviour of S, Se, As, Cl, Cr, V, Ni, Co, Cu, Zn, Pb and Hg in coal combustion was studied in two fluidised-bed power stations (at 40 % or 100 % boiler output, bituminous coal and lignite), in co-combustion of coal and wastes and in the combustion in a pilot-scale unit. Volatility of trace elements in the combustion chamber was evaluated by comparison of the element content in coal, unburnt carbon and bottom ash. In all the units mentioned above, S, Se, Cl, Hg and As were volatile, which corresponds with the results reported in literature. Cu, V, Co, Ni a Cr were non-volatile in the power stations, while in the pilot-scale unit volatilization prevailed. On the other hand, Zn was non-volatile only in the Tisová power station, where lignite was burnt. When compared with other elements, the behaviour of Pb in combustion was most dependent on the combustion unit type, the coal burnt and boiler output.

## ODSTRAŇOVÁNÍ SLOUČENIN MĚDI A ZINKU Z VOD ADSORPCÍ NA HYDROXIDU HOŘEČNATÉM

NINA STRNADOVÁ a DANIELA MATĚJKOVÁ

Ústav technologie vody a prostředí, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6  
nina.strnadova@vscht.cz

Došlo 30.6.05, přepracováno 2.9.05, přijato 19.1.06.

Klíčová slova: adsorpce, voda, měď, zinek

### Úvod

Obsah sloučenin kovů ve vodě patří mezi hygienicky i vodohospodářsky významné ukazatele. Kritéria vymezující jejich povolený obsah v pitných, povrchových i odpadních vodách, ale také v kalech, půdě, dále pak v různých zemědělských produktech a potravinářských výrobcích se stále zpřísňují. K nejrizikovějším kovům se řadí rtuť, arsen, antimon, kadmium, olovo, chrom a nikl. Kovy se ve vodách mohou vyskytovat ve formě jednoduchých kationtů nebo aniontů, ve formě komplexních aniontů nebo neutrálních molekul (komplexy s huminovými látkami, aminokyselinami a iontové asociáty s ionty uhličitany, hydrogenuhličitany, síranovými a fosforečnanovými). Toxicita závisí především na formách výskytu příslušného kovu, přičemž podstatně vyšší toxicita přísluší zpravidla iontové formě kovu, nižší toxicitu mají formy komplexní.

### Limitní emisní koncentrace

Zdrojem těžkých kovů v povrchových vodách jsou různá průmyslová odvětví. Limitní koncentrace kovů v tekoucích povrchových vodách vymezuje nařízení vlády č. 61/2003 Sb. formou imisních standardů tj. ukazatelů přípustného znečištění povrchových vod<sup>1</sup>. Imisní standardy vyjadřují maximální přípustné znečištění povrchových vod při průtoku  $Q_{355}$  (průtok, který je v toku po dobu 355 dní v roce dosažen a překročen), popř. při minimálním zaručeném průtoku vody v toku. Někdy je udána hodnota standardu, limitní koncentrace (koncentrace), která je považována za splněnou, pokud je roční počet vzorků s vyšší koncentrací než odpovídá standardu větší než 5 %. V tabulce I jsou uvedeny přípustné hodnoty emisních koncentrací sloučenin mědi a zinku ve vyčištěné vodě pro vybrané provozy.

Povolená koncentrace zinku v povrchových vodách je  $200 \mu\text{g l}^{-1}$  a mědi  $30 \mu\text{g l}^{-1}$ . Koncentrace Cu a Zn jsou též vymezeny v imisních standardech, vyjadřujících ukazatele a přípustné hodnoty znečištění povrchových vod, které

Tabulka I

Přípustné hodnoty emisních koncentrací pro měď a zinek ve vyčištěných odpadních vodách

Průmyslový obor	Cu [ $\text{mg l}^{-1}$ ]	Zn [ $\text{mg l}^{-1}$ ]
Textilní průmysl	0,5	2,0
Barevná metalurgie	0,5	2,0
Těžba a zpracování rud	1,0	3,0
Spalování odpadů	0,5	1,5

jsou vhodné pro život a reprodukci původních druhů ryb a dalších vodních živočichů. Pro vody lososové je přípustná hodnota pro celkový obsah Zn menší než  $0,3 \text{ mg l}^{-1}$  a pro vody kaprové menší než  $1,0 \text{ mg l}^{-1}$ . V případě rozpuštěných sloučenin mědi je přípustná koncentrace pro vody lososové i kaprové stejná, nižší než  $40 \mu\text{g l}^{-1}$ . Přípustné hodnoty koncentrací sloučenin Zn a Cu závisí i na obsahu vápníku a hořčíku ve vodě (na tvrdosti vody), protože v jejich přítomnosti dochází k tvorbě komplexních kationtů Zn a Cu se sloučeninami Ca a Mg a toxický vliv se snižuje. Obecně se vzrůstající „tvrdostí“ vody stoupá i povolená koncentrace sloučenin Zn a Cu.

Koncentrace mědi a zinku pro povrchové vody, které jsou využívány, nebo u kterých se předpokládá využití jako zdroje pitné vody, je pro kategorie A1 přípustná koncentrace mědi  $20 \mu\text{g l}^{-1}$  a zinku  $500 \mu\text{g l}^{-1}$ , pro kategorie A2 je uvedena koncentrace mědi  $50 \mu\text{g l}^{-1}$  a zinku  $1 \text{ mg l}^{-1}$  a pro kategorie A3 je uvedena koncentrace mědi  $100 \mu\text{g l}^{-1}$  a zinku  $1 \text{ mg l}^{-1}$ . Kategorie A1 až A3 se vztahují k standardním metodám úpravy surové vody na vodu pitnou a se zvyšujícím se číslem roste i náročnost na technologické stupně úpravy.

Sloučeniny mědi a zinku patří k vybraným zvláště nebezpečným látkám ve vodách, stejně tak jako sloučeniny dalších kovů (As, Sn, Cr, Ni a Pb), u nichž je uvedeným nařízením vlády č.61/2003 Sb. vymezeno i vypouštěné prahové množství a u nichž se požaduje minimální četnost sledování  $12\times$  za rok. Pro měď je uvedeno denní množství  $5 \text{ gramů}$  a roční množství  $1,5 \text{ kg}$ , pro zinek je uvedeno denní množství  $20 \text{ gramů}$  a roční množství  $7,0 \text{ kg}$ .

Pro pitnou vodu je vyhláškou č. 252/2004 Sb. vymezena jako nejvyšší mezní hodnota pro Cu  $1 \text{ mg l}^{-1}$ , koncentrace zinku uvedena není.

### Formy výskytu mědi ve vodách

Formy výskytu mědi ve vodách jsou vzhledem k její snadné komplexaci značně rozmanité. Z rozpuštěných forem výskytu přicházejí v úvahu kromě jednoduchého iontu  $\text{Cu}^{2+}$  především hydroxokomplexy  $[\text{CuOH}]^+$ ,  $[\text{Cu}(\text{OH})_2(\text{aq})]^0$ ,  $[\text{Cu}(\text{OH})_3]^-$ ,  $[\text{Cu}(\text{OH})_4]^{2-}$  a dále uhličitany komplexy  $[\text{CuCO}_3(\text{aq})]^0$ ,  $[\text{Cu}(\text{CO}_3)_2]^{2-}$ ,  $[\text{Cu}(\text{CO}_3)\text{OH}]^-$  a  $[\text{Cu}(\text{CO}_3)(\text{OH})_2]^{2-}$ . V organicky znečištěných hydrogenuhličitany vodách může být v neutrální oblasti karbonatokomplex  $[\text{CuCO}_3(\text{aq})]^0$  dominující rozpuštěnou komponentou. Značně stabilní jsou také

tzv. aminkomplexy  $[\text{Cu}(\text{NH}_3)]^{2+}$  až  $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_5]^{2+}$ , dále pak kyanokomplexy  $[\text{Cu}(\text{CN})_2]^-$  a  $[\text{Cu}(\text{CN})_4]^{3-}$ . Aminkomplexy a kyanokomplexy přicházejí v úvahu především v odpadních vodách z galvanizoven. Naopak málo stabilní jsou chlorokomplexy, např.  $[\text{CuCl}]^0$ ,  $[\text{CuCl}]^+$ ,  $[\text{CuCl}_2]^-$  aj., a sulfatokomplex  $[\text{CuSO}_4(\text{aq})]^0$ .

Na rozdíl od olova a kadmia je měď pro lidský organismus nezbytným (esenciálním) prvkem a je přijímána potravou v množství asi 2–5 mg za den. Koncentrace mědi v krevní plazmě se pohybuje kolem  $1 \text{ mg l}^{-1}$ . Rozpustné sloučeniny mědi se vstřebávají zažívacím ústrojím. Vylučování je pomalé a děje se prostřednictvím žluči. Soli mědi jsou dráždivé, iritují pokožku a oční sliznice a požití většího množství vyvolává zvracení, průjem a nadměrné slinění. Koncentrace cca  $1 \text{ mg l}^{-1}$  a vyšší negativně ovlivňuje organoleptické vlastnosti (chuť) vody. Chronická akumulace mědi v lidském organismu je způsobena genetickou poruchou, neschopností vylučovat měď žlučí. Tato porucha se nazývá Wilsonova nemoc. Vede k poškození jater a mozku. Poměrně přísné limity pro koncentraci mědi v povrchových vodách jsou dány její značnou toxicitou pro vodní organismy včetně ryb<sup>3</sup>.

#### Formy výskytu zinku ve vodách

Zinek se v podzemních a povrchových vodách vyskytuje v koncentračním rozmezí od  $5 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$  do  $200 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$ . Velké množství zinku se dostává do podzemní vody při oxidačním rozkladu sulfidických rud. Z průmyslových odpadních vod obsahují zinek např. vody ze zpracování zinkových rud, z mořření mosazi a ze závodů na zpracování tuků. Významné množství zinku se do životního prostředí dostává atmosférickým spadem (spalování fosilních paliv).

Z rozpuštěných forem výskytu přicházejí v úvahu jednoduchý ion  $\text{Zn}^{2+}$ , hydroxokomplexy  $[\text{Zn}(\text{OH})]^+$ ,  $[\text{Zn}(\text{OH})_2(\text{aq})]^0$ ,  $[\text{Zn}(\text{OH})_3]^-$ ,  $[\text{Zn}(\text{OH})_4]^{2-}$ ,  $[\text{Zn}(\text{CO}_3(\text{aq}))]^0$ ,  $[\text{Zn}(\text{CO}_3)_2]^{2-}$ ,  $[\text{ZnHCO}_3]^+$  a ve vodách s vysokou koncentrací síranů též sulfatokomplex  $[\text{ZnSO}_4(\text{aq})]^0$ . Kromě toho jsou známé i chlorokomplexy a fosfatokomplexy. V průmyslových odpadních vodách přicházejí v úvahu kyanokomplexy a aminkomplexy. Zinek tvoří i komplexy s organickými látkami přítomnými v přírodních vodách. Ve vodách je rozpustnost zinku limitována zejména rozpustností  $\text{ZnCO}_3$ ,  $\text{Zn}_5(\text{OH})_6(\text{CO}_3)_2$ , nebo v silněji alkalické oblasti  $\text{Zn}(\text{OH})_2$ .

Zinek patří mezi esenciální stopové prvky pro lidi, zvířata i rostliny. Doporučený denní příjem pro dospělé osoby je 10 mg až 20 mg. Zinek je součástí některých enzymů. V krvi je zinek ze 75 % vázán v plazmě, z 22 % na erythrocytech a ze 3 % na leukocytech<sup>4</sup>. Pro člověka se považuje koncentrace zinku ve vodě  $30 \text{ mg l}^{-1}$  za prahovou hranici toxicity. Onemocnění způsobená požíváním vody s obsahem zinku nejsou známa. Ve vyšších koncentracích způsobuje svíravou chuť vody. Zinek je ovšem značně toxický pro ryby a další vodní organismy. Jde o koncentrace pohybující se řádově již v desetinách  $\text{mg l}^{-1}$ .

Při průmyslové expozici je nejznámějším a nejčastějším toxickým projevem vdechování jemného prašného aerosolu zinku, projevující se pocitem malátnosti, bolestí hlavy, škrábáním v krku a dráždivým kašlem.

#### Metody odstraňování sloučenin kovů z vod

Pro odstraňování sloučenin kovů z vod je využívána řada postupů. Obecně je možné pro odstraňování sloučenin kovů z vod použít procesy iontové výměny, membránové procesy, srážecí postupy a adsorpci. Účinným řešením odstraňování některých organických i anorganických polutantů z vody je adsorpce<sup>5–9</sup>. Pro adsorpci je vyvíjena celá řada moderních adsorpčních materiálů (aktivní uhlí, aktivní koks, uhlíkatá molekulová síta, uhlíkové tkaniny, iontovýmenné pryskyřice, hydroxid hořečnatý), jejichž účinnost je poměrně vysoká, ale nevýhodou je vysoká cena. Další možností je využití přírodních sorbentů (hnědé a černé uhlí, humáty železa, rašelina, kůra, huminové kyseliny, řasy, atd.), jejichž cena je nesrovnatelně nižší, nicméně sorpční kapacita je omezená. Z tohoto hlediska se jako vhodné jeví zeolity (syntetické i přírodní).

#### Cíl práce

V práci byla pozornost zaměřena na využití hydroxidu hořečnatého jako adsorpčního činidla pro odstraňování sloučenin mědi a zinku z vod. Práce byla zaměřena na snížení koncentrace mědi a zinku ze třech typů vod.

#### Experimentální část

Adsorbent: hydroxid hořečnatý s obsahem  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  99,5 %. Základní charakteristiky sorbentu jsou uvedeny v tabulce II.

Vzorky vod: Adsorpční účinnost hydroxidu hořečnatého byla sledována v modelovém vzorku připraveném z destilované vody, dále ve vzorku podzemní vody z lokality Praha Liboc a ve vzorku vltavské vody odebrané v Praze. Testované vzorky vod vykazovaly relativně nízké koncentrace sledovaných kovů, složení je uvedeno v tabulce III, a proto byl obsah sloučenin mědi a zinku uměle navýšen přidávkem roztoků  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3 \text{ H}_2\text{O}$  a  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$  o koncentraci  $1 \text{ mol l}^{-1}$ . Adsorpce sloučenin mědi a zinku na hydroxidu hořečnatém byla tedy sledována pro vodu destilovanou, podzemní a vodu říční o koncentraci sloučenin

Tabulka II  
Základní charakteristiky hydroxidu hořečnatého

Ukazatel	$\text{Mg}(\text{OH})_2$
Velikost částic, $\mu\text{m}$	0,9–1,6
Specifický povrch, $\text{m}^2 \text{ g}^{-1}$	6–9
Relativní molekulová hmotnost, $\text{g mol}^{-1}$	58,32
Součin rozpustnosti, $\log K_s$	–10,8

Tabulka III  
Základní složení podzemní a vltavské vody

Ukazatel	Podzemní voda	Vltavská voda
pH	7,2	7,6
CHSK <sub>Mn</sub> , mg l <sup>-1</sup>	0,76	6,6
KNK <sub>4,5</sub> , mmol l <sup>-1</sup>	2,35	1,0
ΣCa+Mg, mmol l <sup>-1</sup>	2,45	1,08
K, mg l <sup>-1</sup>	9,03	4,6
Na, mg l <sup>-1</sup>	28,7	14,7
Cl <sup>-</sup> , mg l <sup>-1</sup>	65,4	20,3
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , mg l <sup>-1</sup>	83,8	35,6
Fe, mg l <sup>-1</sup>	0,125	< 0,01
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , mg l <sup>-1</sup>	48,6	17,5
Konduktivita, μs cm <sup>-1</sup>	62,2	306
Zn, mg l <sup>-1</sup>	0,037	0,904
Cu, mg l <sup>-1</sup>	0,015	0,014
Iontová síla, mmol l <sup>-1</sup>	10,6	6,0

Cu a Zn asi 5 mg l<sup>-1</sup> (počítáno jako Cu a Zn).

Při měření byly vyhodnocovány následující veličiny:

Adsorpční účinnost  $E$  [%] jako procentuální odstranění sloučenin kovu (Cu nebo Zn) z vodného roztoku po ustavení adsorpční rovnováhy. Účinnost byla počítána ze vztahu:

$$E = \frac{C_0 - C_r}{C_0} \cdot 100 \quad (1)$$

kde  $C_0$  je počáteční koncentrace a  $C_r$  rovnovážná koncentrace kovu v mg l<sup>-1</sup> nebo v mmol l<sup>-1</sup>.

Adsorpční kapacita sorbentu vyjadřuje množství Cu nebo Zn, které se adsorbuje v rovnovážném stavu na 1 g adsorbentu. Byla vypočítávána ze vztahu:

$$a = \frac{V}{m} (C_0 - C_r) \quad (2)$$

kde  $a$  [mg g<sup>-1</sup>] je adsorpční kapacita,  $V$  je objem použitého roztoku [l] a  $m$  je hmotnost adsorbentu [g].

### Zpracování výsledků měření

K zpracování výsledků byly použity adsorpční izotermy:

Langmuirova izoterma (izoterma pro jednovrstvou adsorpci na homogenním povrchu)

$$a = a_m \cdot \frac{bC_r}{1 + bC_r} \quad (3)$$

kde  $a_m$  je maximální adsorpční kapacita (zcela nasycené monovrstvy) v mg g<sup>-1</sup> a  $b$  je rovnovážná konstanta v l mg<sup>-1</sup>. Freundlichova izoterma (izoterma pro adsorpci na neho-

mogenním povrchu)

$$a = K \cdot C_r^{1/n} \quad (4)$$

kde  $K$  [l g<sup>-1</sup>] a  $n$  [-] jsou konstanty izotermy.

Hodnoty konstant  $a_m$ ,  $b$ ,  $K$  a  $n$  byly vyhodnoceny z experimentálních dat s využitím metod nelineární regrese<sup>10,11</sup> nebo s využitím transformace na linearizovaný tvar.

V případě Langmuirovy izotermy byl použit vztah (5) a (6).

$$\frac{C_r}{a} = \frac{1}{a_m b} + \frac{1}{a_m} \cdot C_r \quad (5)$$

$$\frac{1}{a} = \frac{1}{a_m} + \frac{1}{a_m b} \cdot \frac{1}{C_r} \quad (6)$$

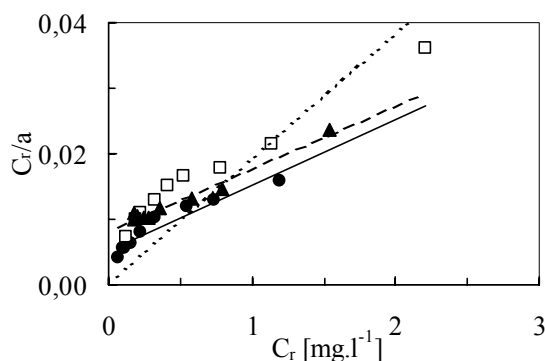
V případě Freundlichovy izotermy vztah (7).

$$\log a = \log K + 1/n \log C_r \quad (7)$$

## Výsledky a diskuse

Popis adsorpce sloučenin mědi a zinku na hydroxidu hořečnatém

Konstanty Langmuirovy a Freundlichovy izotermy popisující adsorpci sloučenin Cu a Zn z různých typů vod na hydroxidu hořečnatém jsou uvedeny v tabulkách IV až VII. Výpočet byl proveden jak užitím vztahů pro nelineární regresi, tak pro lineární regresi (s využitím rovnic (5), (6) a (7)). Jako příklad je na obr. 1 uvedena linearizace Langmuirovy izotermy pomocí rovnice (5) pro Cu a všechny testované vody. Vliv použité metody vyhodno-

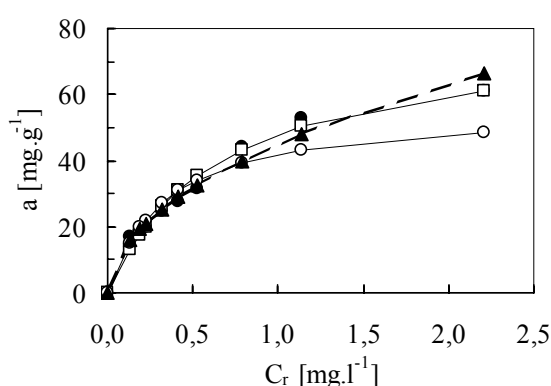
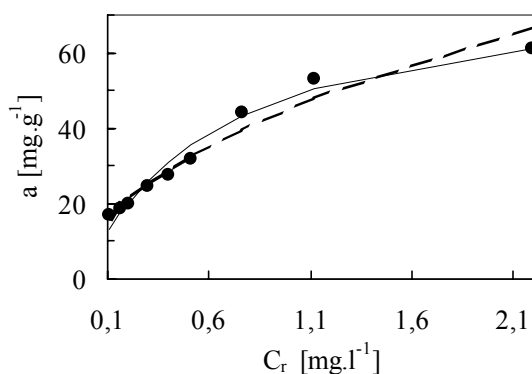


Obr. 1. Výsledky vyhodnocení naměřených hodnot při použití linearizovaného tvaru Langmuirovy izotermy (body představují naměřené hodnoty, křivky hodnoty vypočítané z izotermy); ● destilovaná voda (plná křivka), □ podzemní voda (čárkovaná křivka), ▲ říční voda (tečkovaná křivka)

Tabulka IV

Konstanty Langmuirovy a Freundlichovy izotermy pro sloučeniny mědi (Cu) – nelineární regrese

Parametr	Jednotka	Typ vody		
		destilovaná	podzemní	říční
$a_m$	$\text{mg g}^{-1}$	<b>109,3</b>	<b>81,3</b>	<b>103,3</b>
Interval hodnot		79,4–174,7	68,02–98,9	89,2–121,5
$b$	$\text{l mg}^{-1}$	<b>1,56</b>	<b>1,43</b>	<b>1,23</b>
Interval hodnot		0,69–3,27	0,96–2,19	0,92–2,42
$K$	$\text{l g}^{-1}$	<b>67,0</b>	<b>44,5</b>	<b>54,6</b>
Interval hodnot		63,6–70,4	40,8–48,2	48,7–60,4
$n$	–	<b>0,577</b>	<b>0,475</b>	<b>0,575</b>
Interval hodnot		0,520–0,636	0,380–0,570	0,451–0,703

Obr. 2. Adsorpční izotermy sloučenin Cu na  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  – podzemní voda; ● experimentální data, □— rovnice 5, ○— rovnice 6, ▲--- rovnice 7Obr. 3. Adsorpční izotermy sloučenin Cu na  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  – podzemní voda; ● experimentální data, — nelineární regrese – Langmuirova izoterma, --- nelineární regrese – Freundlichova izoterma

čení (lineární a nelineární regrese) na hodnoty konstant a na přesnost ilustrují obr. 2 až 4.

Z výsledků vyplynulo, že nejnižší hodnoty konstant

$K$  a  $a_m$  pro adsorpci mědi byly získány pro podzemní vodu, nejvyšší hodnoty byly získány pro modelové vzorky připravené z destilované vody. Hodnoty konstanty  $b$  při užití vztahu (5) byly pro všechny typy vod srovnatelné, pohybovaly se v intervalu 1,16 až 1,98 (tabulka V). Tento poznatek naznačuje, že adsorpční vlastnosti hydroxidu hořečnatého nejsou ovlivněny počáteční koncentrací kovů v roztoku (testovaný rozsah 0–200  $\text{mg l}^{-1}$  Cu). Při užití linearizovaného vztahu (6) byly hodnoty konstanty  $b$  významně rozdílné, resp. pohybovaly se v intervalu 0,84 až 4,71.

V případě adsorpce zinku hodnoty  $K$  a  $a_m$  klesaly od destilované vody po vodu říční, hodnoty  $b$  vykazovaly opačný trend, stejně tak i konstanta  $n$  Freundlichovy rovnice.

Porovnáním hodnot vypočtených užitím nelineární regrese a linearizovaných vztahů pro adsorpci Cu a Zn z vodných roztoků lze konstatovat, že chybných výsledků bylo dosaženo ze vztahu (6), kdy získané hodnoty  $a_m$  a  $b$  leží mimo konfidenční interval (tabulky IV a V pro Cu a tabulky VI a VII pro Zn).

Konstanta  $K$  Freundlichovy izotermy vypočtená pro Cu z rovnice (7) se od vypočtené hodnoty  $K$  uvedené v tabulce IV liší max. o 5 %. Pro Zn (tabulka VI) je rozdíl max. 3 %. Významně odlišná je však hodnota konstanty  $n$ , která je cca čtyřnásobkem hodnoty získané z nelineární regrese a uvedené v tabulce IV pro Cu, pro Zn je to obdobné, pouze pro říční vodu to je až 16-ti násobek. V obou případech porovnání hodnota  $n$  leží mimo hranice konfidenčního intervalu.

Tabulka V

Konstanty Langmuirovy a Freundlichovy izotermy pro sloučeniny Cu získané z linearizovaných vztahů

Typ vody	rovnice 5		rovnice 6		rovnice 7	
	$a_m$ [ $\text{mg g}^{-1}$ ]	$b$ [ $\text{l mg}^{-1}$ ]	$a_m$ [ $\text{mg g}^{-1}$ ]	$b$ [ $\text{l mg}^{-1}$ ]	$n$ [–]	$K$ [ $\text{l g}^{-1}$ ]
Destilovaná	99,010	1,980	60,606	4,714	1,851	64,700
Podzemní	78,740	1,549	56,180	2,918	1,997	44,771
Říční	105,263	1,158	133,333	0,843	1,517	57,505

Tabulka VI

Konstanty Langmuirovy a Freundlichovy izotermy pro sloučeniny Zn – nelineární regrese

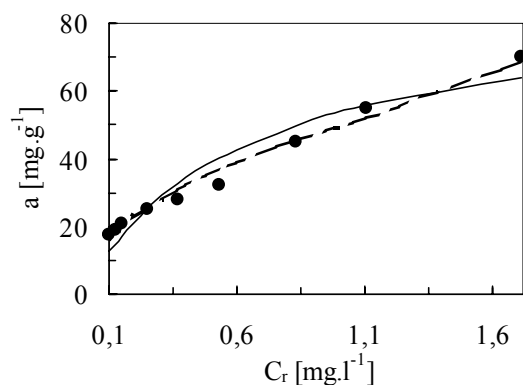
Parametr	Jednotka	Typ vody		
		destilovaná	podzemní	říční
$a_m$	$\text{mg g}^{-1}$	<b>100,1</b>	<b>93,6</b>	<b>37,1</b>
Interval hodnot		71,5–163,8	64,3–172,1	32,9–41,5
$b$	$\text{l mg}^{-1}$	<b>1,19</b>	<b>1,33</b>	<b>3,98</b>
Interval hodnot		0,51–2,42	0,43–3,36	2,26–6,48
$K$	$\text{l g}^{-1}$	<b>52,3</b>	<b>51,2</b>	<b>27,4</b>
Interval hodnot		49,9–54,8	48,1–54,2	26,8–27,9
$n$	–	<b>0,564</b>	<b>0,534</b>	<b>0,246</b>
Interval hodnot		0,490–0,628	0,455–0,618	0,225–0,267

## Maximální absorbovatelné množství

Maximální adsorbované množství sloučenin mědi (počítáno jako Cu) na hydroxid hořečnatý bylo cca  $100 \text{ mg g}^{-1}$  a pro sloučeniny zinku (počítáno jako Zn) cca  $50 \text{ mg g}^{-1}$ , přičemž toto množství významně záviselo na druhu vody. Hodnota adsorpční kapacity pro Zn a říční vodu byla cca třetinová ve srovnání s vodou podzemní.

## Kvantitativní popis adsorpce

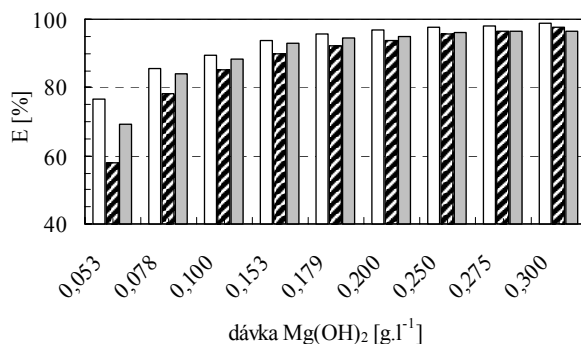
Adsorpci sloučenin Cu a Zn na hydroxidu hořečnatém lze popsat jak Freundlichovou, tak Langmuirovou izotermou, přičemž na výsledek hodnocení nemá významný vliv, zda byla použita nelineární regrese nebo lineární regrese. Adsorpční izotermy pro sloučeniny mědi jsou uvedeny na obr. 2 a 3, pro sloučeniny zinku na obr. 4. Na obrázcích je uvedeno porovnání naměřených rovnovážných koncentrací sloučenin mědi a zinku pro podzemní vodu s koncentracemi vypočítanými z linearizovaných tvarů adsorpčních izoterm (pomocí rovnic (5), (6) a (7) –



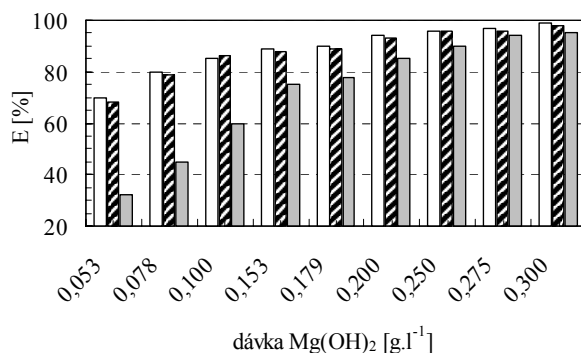
Obr. 4. Adsorpční izotermy sloučenin Zn na  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  – podzemní voda; ● experimentální data, — nelineární regrese – Langmuirova izoterma, --- nelineární regrese – Freundlichova izoterma

obr. 2) a ze vztahů pro nelineární regresi – obr. 3 a 4.

Z mnoha praktických aplikací využití adsorpce je známo, že na účinnost odstranění adsorbátu má významný vliv i množství použitého sorbentu. (Tento výrok podtrhuje to, co obecně platí pro adsorpci a co je vlastně samozřejmost. Souvisí to s celkovou bilancí adsorpce). Vliv použí-



Obr. 5. Závislost účinnosti odstranění sloučenin Cu na dávce  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ; □ destilovaná voda, ■ podzemní voda, ▨ říční voda



Obr. 6. Závislost účinnosti odstranění sloučenin Zn na dávce  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ; □ destilovaná voda, ■ podzemní voda, ▨ říční voda

Tabulka VII

Konstanty Langmuirovy a Freundlichovy izotermy pro sloučeniny Zn získané z linearizovaných vztahů

Typ vody	rovnice 5		rovnice 6		rovnice 7	
	$a_m$ [mg g <sup>-1</sup> ]	$b$ [l mg <sup>-1</sup> ]	$a_m$ [mg g <sup>-1</sup> ]	$b$ [l mg <sup>-1</sup> ]	$n$ [-]	$K$ [l g <sup>-1</sup> ]
Destilovaná	90,090	1,521	55,249	3,851	1,936	50,757
Podzemní	86,207	1,657	55,249	4,114	2,075	49,716
Říční	38,610	3,321	34,965	5,107	4,045	27,346

tého množství adsorbentu na stupeň odstranění sloučenin Cu a Zn je uveden na obr. 5 a 6. Pro měď je adsorpční účinnost vyrovnána pro všechny typy vod, avšak pro zinek je účinnost významně snížena v říční vodě, a to především při nižších dávkách sorbentu. Vysvětlení lze hledat v přítomnosti ostatních iontů kovů, které mohou být konkurenčně, přednostně sorbovány před zinkem. Dávka sorbentu 0,15 g l<sup>-1</sup> vykazuje větší než 90% účinnost odstranění mědi, a to ze všech typů vod. Zinek je s touto účinností a při téže dávce odstraněn pouze z destilované vody. Z podzemní vody vykazuje srovnatelná dávka pouze 85% účinnost. Byla-li použita dávka sorbentu vyšší jak 0,25 g l<sup>-1</sup>, účinnost odstranění pro oba kovy byla větší než 95 %. V průběhu adsorpčních testů bylo z důvodu alkalického charakteru sorbentu pozorováno i nepatrné zvýšení hodnoty pH. Navýšení bylo maximálně zaznamenáno o 0,5 pH pro Cu a 0,8 pro Zn. V případě Cu se ve sledovaném rozsahu dávek sorbentu 0,05 až 0,3 g l<sup>-1</sup> jednalo o navýšení hodnoty pH z 6,75 na 7,08 u destilované vody, ze 7,7 na 8,0 v případě podzemní vody a ze 7,30 na 7,80 u říční vody. V přítomnosti Zn byla zvýšena hodnota pH v destilované vodě ze 6,50 na 7,30, v podzemní vodě z 7,80 na 8,53 a ve vodě říční z hodnoty 7,63 na 8,42.

## Závěr

Hydroxid hořečnatý je účinným adsorbentem pro odstraňování sloučenin mědi a zinku z vodných roztoků. Jeho adsorpční kapacita je vyšší pro sloučeniny Cu<sup>2+</sup> než pro sloučeniny Zn<sup>2+</sup> (asi 100 mg g<sup>-1</sup> pro Cu a asi 50 mg g<sup>-1</sup> pro Zn). Adsorpci lze popsat jak Langmuirovou, tak Freundlichovou izotermou. Dávka hydroxidu hořečnatého od 0,2 g l<sup>-1</sup> umožňuje dosáhnout účinnosti odstranění Cu a Zn vyšší jak 90 %.

## LITERATURA

1. Nařízení vlády č. 61/2003 Sb., *O ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových a odpadních vod*. Praha 2003.
2. *Vyhláška č. 252/2004 Sb., kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody*. Praha 2004.
3. Bencko V., Cikrt M., Lener J.: *Toxické kovy v životním a pracovním prostředí člověka*. GRADA, Praha 1995.
4. Sollman T.: *A manual of pharmacology*, 8. ed. Phil. W. B. Saunders Co., London 1957.
5. Dimitrova S. V.: *Water Res.* 30, 228 (1996).
6. Ricou P., Lécuyer I., Le Cloirec P.: *Wat. Sci. Technol.* 39, 239 (1999).
7. Cheung C. W., Porter J. F., McKay G.: *Sep. Purif. Technol.* 19, 55 (2000).
8. Ringqvist L., Öborn I.: *Wat. Res.* 36, 2233 (2002).
9. Monser L., Adhoum N.: *Sep. Purif. Technol.* 26, 137 (2002).
10. Origin 6.0 professional: [www.origin.lab.com](http://www.origin.lab.com), staženo 6. září 2003.
11. Zámotný P., Bělohav Z.: *Comput. Chem.* 23, 479 (1999).
12. Wan Ngah W. S., Endud C. S., Mayanar R.: *React. Function. Polym.* 50, 181 (2002).

**N. Strnadová and D. Matějková** (*Department of Water Technology and Environment, Institute of Chemical Technology, Prague*): **Adsorption of Copper and Zinc from Aqueous Solution on Mg(OH)<sub>2</sub>**

Mg(OH)<sub>2</sub> was shown to be efficient in removal of copper and zinc from aqueous solutions. Metal removal capacity of Mg(OH)<sub>2</sub> for Cu<sup>2+</sup> was higher than that for Zn<sup>2+</sup>. Adsorption data for copper and zinc in batch systems have been obtained. The Langmuir and Freundlich isotherm models adequately describe the adsorption process. The measured data obey the Freundlich isotherm in all cases. The use of a non-linear curve or Origin 6.0 Professional is of advantage because it is possible to calculate the Langmuir isotherm constants directly from the measured equilibrium concentrations.



## STANOVENÍ KONCENTRACE SOLUBILNÍHO LEPTINOVÉHO RECEPTORU (Ob-Re) POMOCÍ NOVÉ METODY ELISA

DAVID STEJSKAL<sup>a</sup> a IVAN SVOBODA<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Oddělení laboratorní medicíny Nemocnice Šternberk, Jívavská 20, 785 16 Šternberk, <sup>b</sup> Biovendor laboratorní medicína a.s.

david.stejskal@quick.cz, svoboda@biovendor.com

Došlo 16.1.06, přijato 27.4.06.

Klíčová slova: leptinový receptor, ELISA, leptin, obezita

### Úvod

Tukové buňky produkují řadu látek, které významným způsobem ovlivňují energetickou homeostázu, vznik diabetu mellitu, aterogeneze a účastní se mnoha dalších fyziologických i patologických pochodů i regulací v organismu. Jednou z těchto látek je leptin, který účinkuje přes leptinový receptor snížením chuti k jídlu a zvýšením energetického výdeje. Leptinový receptor se dělí na sekreční (ObRe), dlouhou (ObRb) a krátké formy (ObRa, ObRc, ObRd, ObRf). Pouze ObRb je plně biologicky funkční; ostatní receptory mají význam pro přestup leptinu do mozku a vazbu leptinu v cirkulaci (ObRe). Regulace leptinu v organismu jsou velice složité a závisí na řadě faktorů (vliv hormonů a chemokinů, vliv maturace organismu, tukové tkáně, věku, typu a množství potravy, kouření, alkoholu, atp.).

Jelikož nebyla ještě před několika lety komerčně dostupná souprava na stanovení koncentrace ObRe v krvi (byly popsány pouze možnosti stanovení exprese Db genu – např. pomocí PCR, Western blottingu, hybridizace *in situ*, imunohistochemie, atp.) a několik prací, které se měřením jeho koncentrace v cirkulaci zabývalo používalo různě problematické metody stanovení (tzv. in-house metody), stalo se cílem naší práce sestavení, optimalizace a validace ELISA soupravy na stanovení ObRe.

### Experimentální část

#### Příprava protilátek

Rekombinantní lidský leptinový receptor pro imunizaci byl získán od výrobce Research Diagnostics, Inc. Šlo o fúzní protein složený z extracelulární domény leptin receptoru a Fc regionu lidského imunoglobulinu G (ObRe/Fc).

Dvě BALB/c 6–8 týdnů staré myši byly intradermál-

ně injikovány v 3-týdenních intervalech. Imunizační dávku představovalo 25 µg rekombinantního antigenu v suspenzi PBS/Freundovo adjuvans (0,1 M fosforečnan sodný, 0,1 M NaCl, pH 7,2) s Freundovým adjuvans v objemovém poměru 1:1). Po páté imunizaci byly myši utráceny a izolované slezinné buňky byly fúzovány s myelomovou linií Sp2/0. Vzniklé hybridomy byly selektovány v selekčním médiu HAT (hypoxantin/aminopterin/thymidin) a poté kultivovány v DMEM médiu s 15 % FCS (kultivační médium, které obsahuje 15 % fetální telecí sérum v DMEM – Dulbecco's Modified Eagle's Medium – Cambrex, s obsahem glukosy 1 g l<sup>-1</sup> a přídavkem L-glutaminu 366 mg l<sup>-1</sup>). Buňky produkující požadované protilátky byly vybírány metodou nepřímé ELISA. Vybrané monoklonální protilátky byly dále produkovány jako ascitické tekutiny v BALB/c myších stimulovaných pristanem a purifikovány na koloně s imobilizovaným proteinem G.

#### Nepřímá ELISA

Rekombinantní ObRe/Fc byl rozpuštěn v 0,1 M karbonátovém pufru, pH 8,5 v koncentraci 1 µg ml<sup>-1</sup> a vázán přes noc při 4–8 °C na mikrotitrační destičky Corning Costar, High Binding. Destičky byly promyty roztokem TBS-Tween 20 (0,05M Tris, 0,1M NaCl, 0,05% Tween 20, pH 7,2) a případná volná vazebná místa byla zablokována roztokem TBS-Tween 20-želatina. Do jamek bylo pipetováno 100 µl média s protilátkami (případně 300× ředěná ascitická tekutina), po 1 h inkubaci a následném promytí bylo přidáno 100 µl vhodně naředěného konjugátu kozí protilátky proti myšimu imunoglobulinu G s křenovou peroxidasou (Dako). Destičky byly inkubovány 1 h při pokojové teplotě, promyty a bylo přidáno 100 µl TMB substrátu (1,2 mM tetrametylbendidin s obsahem 3 mM peroxidu vodíku, KPL, katalogové číslo 52 00 01), enzymová reakce byla zastavena přídavkem 100 µl 0,2 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> do každé jamky a byla změřena absorbance při 450 nm. Imunoglobulinová frakce získaná srážením směšného lidského séra síranem amonným byla rozpuštěna v 0,1 M karbonátovém pufru, pH 8,5 v koncentraci 10 µg ml<sup>-1</sup> a vázána na mikrotitrační destičky Corning Costar, High Binding přes noc při 4–8 °C.

#### Výběr pozitivních klonů

Jako pozitivní klony byly vybrány ty, které produkovaly protilátky, které dávaly v nepřímé ELISA vysokou absorbanci (typicky více než 3,0) na desce s navázaným ObRe/Fc (1 µg l<sup>-1</sup>) a současně nízkou absorbanci (typicky méně než 0,3) na desce s navázaným lidským imunoglobulinem G (10 µg l<sup>-1</sup>).

#### Sandwich ELISA

Monoklonální protilátky proti ObRe byly značeny křenovou peroxidasou (HRP, Boehringer Mannheim) standardní jodistanovou metodou. Purifikované monoklonální

protilátky byly vázány na mikrotitrační desky stejným způsobem jako antigen pro nepřímou metodu ELISA, používané koncentrace pro vazbu se pohybovaly v rozmezí 1 až 5 mg l<sup>-1</sup>. Destičky s navázanými protilátkami byly promyty (0,05 M Tris, 0,1 M NaCl, 0,05 % Tween 20, pH 7,2) a zablokovány (roztok TBS – 0,05 M Tris, 0,15 M NaCl, pH 7,2; 0,5 % BSA (hovězí sérový albumin); 4 % sacharosa). Rekombinantní ObRe/Fc byl ředěn ve vhodném pufru (TBS-Tween-želatina, Leptin Diluent Buffer – BioVendor) a 100 µl roztoku bylo pipetováno do jamek mikrotitrační desky. Po 1 h inkubaci a následném promytí bylo přidáno 100 µl vhodně naředěného konjugátu anti ObRe monoklonální protilátky s křenovou peroxidasou. Desky byly inkubovány 1 h při pokojové teplotě, promyty a bylo přidáno 100 µl TMB substrátu (1,2 mM tetrametylbenzidín s obsahem 3 mM peroxidu vodíku, KPL, katalogové číslo 52 00 01). Enzymová reakce byla zastavena přidáním 100 µl 0,2 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> do každé jamky a byla změřena absorbance při 450 nm.

### Klinické testování soupravy

#### *Technika odběru vzorku krve a stanovení ObRe*

Odběr na stanovení ObRe byl proveden v polosedě z periferní žíly. Vzorek byl po odběru na 60 min uložen v pokojové teplotě. Poté byl centrifugován (10 min, 1100xg, 4 °C) a sérum bylo po stažení zamrazeno při teplotě –80 °C. Stanovení ObRe bylo provedeno max. do 6 týdnů od odběru materiálu. Všechny vzorky byly vyšetřeny dvojmo.

Byl vyšetřen soubor 568 osob (217 mužů a 351 žen). Šlo o osoby sledované v rámci preventivních prohlídek ve spádú Nemocnice Šternberk; podmínkou zařazení osob do studie byla skutečnost, že nebyli léčeni svými lékaři v posledních 6 týdnech pro žádné onemocnění. Cílem této studie mělo být zjištění normálních hodnot ObRe v populaci a vztah k leptinu, event. ukazatelům metabolismu glukosy a lipoproteinů.

#### *Statistické zpracování dat*

Data byla zpracována pomocí software Medcalc (Belgie).

## Výsledky a diskuse

### Příprava protilátek

Slezinné buňky izolované ze dvou myší imunizovaných ObRe/Fc antigenem byly fúzovány s Sp2/0 myelomovými buňkami. První fúze byla neúspěšná; hybridomy rostly ve 30 % jamek, ale při screeningu metodou nepřímé ELISA nebyl nalezen žádný klon, který by produkoval protilátky proti ObRe (tedy byl průkazně pozitivní na desce s imobilizovaným ObRe/Fc a negativní na desce s imobilizovaným lidským Ig). Po druhé fúzi rostly hybridomy v 50 % jamek kultivačních destiček. Při screeningu

bylo vybráno 14 pozitivních klonů. Buňky byly překlonovány, namnoženy a injikovány intraperitoneálně do stimulovaných BALB/c myší.

Monoklonální protilátky produkované v myších jako ascitické tekutiny byly purifikovány metodou HPLC na koloně s imobilizovaným proteinem G a purifikované protilátky byly konjugovány s křenovou peroxidasou (HRP).

Vývoj sandwich ELISA byl zahájen testováním veškerých kombinací monoklonálních protilátek navázaných na povrchu jamek mikrotitračních destiček a použitých jako HRP konjugáty. Ze vzniklých 196 kombinací reagovalo 150 párů s rekombinantním ObRe/Fc proteinem, přičemž citlivost se pohybovala v rozmezí 1–250 µg l<sup>-1</sup>; u 46 variant nebyla pozorována žádná odezva. Na základě tohoto výsledku byly vybrány 4 protilátky (pro vazbu) a 10 konjugátů. Kombinace těchto komponent byly detailněji testovány na limitovaných souborech sér.

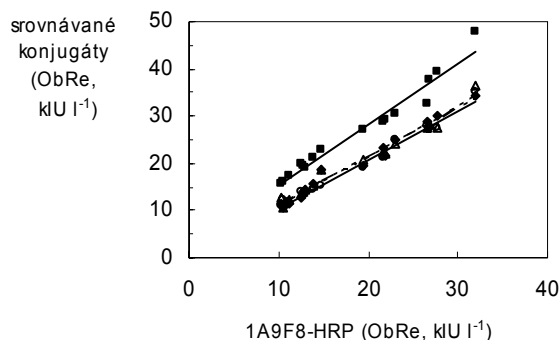
### Definice jednotek standardu

Pro kalibraci ELISA byl použit rekombinantní ObRe/Fc protein (homodimer), který se strukturou a pravděpodobně i imunoreaktivitou odlišoval od nativního ObRe v cirkulaci. Protože byl odlišný od receptoru leptinu v séru, byla použita k vyjádření ObRe jednotka 1 IU, která odpovídá 2 ng rekombinantního standardu.

### Kritéria výběru protilátek, resp. páru vazebná protilátka/ konjugát:

- limit detekce pro rekombinantní ObRe/Fc nižší než 2 µg l<sup>-1</sup>,
- robustnost klonu produkujícího danou protilátku – stabilita, dobrá kultivovatelnost, dobré produkční vlastnosti,
- nejlepší výsledky v základních analytických parametrech (opakovatelnost v sérii i mezi sériemi, variační koeficienty, linearita, výtěžnost) u většího počtu vzorků sér (20 pro každý parametr),
- robustnost metody – minimální vliv teploty, inkubační doby, změny složení ředícího roztoku (byly testovány roztoky o různých koncentracích inertního proteinu, TBS-Twen 20-želatina, TBS-Twen 20-BSA a Leptin ELISA Dilution Buffer (0,05 M Tris, 0,1 M NaCl, 0,5 % BSA, 0,01 % thimerosal),
- stabilita komponent (protilátky imobilizované na mikrotitrační destičce, případně konjugátu.

Z obr. 1 je zřejmé, že konjugáty 1A9F8-HRP, 8C3-HRP, 8D8-HRP, 6B9-HRP a 1A9F8-HRP vydávají ve vzorcích prakticky totožné koncentrace ObRe, zatímco hodnoty získané s konjugátem 4C6-HRP byly o 30 % vyšší. Na základě uvedených parametrů byla pro vazbu vybrána monoklonální protilátka 7B3H9 a konjugát připravený z protilátky 1A9F8, se kterým byla prováděna konečná optimalizace metody; pro ředění vzorků byl zvolen Leptin ELISA Diluent – BioVendor (pro svou schopnost potlačovat případné nespecifické interakce). Bylo ověřeno,



Obr. 1. Srovnání koncentrací ObRe, naměřených v sérech s použitím navázané protilátky 7B3H9 a pěti HRP konjugátů;

konjugáty  $\blacklozenge$  8C3-HRP,  $\blacksquare$  4C6-HRP,  $\blacktriangle$  8D8-HRP  
 a  $\circ$  6B9-HRP jsou porovnávány s konjugátem 1A9F8-HRP  
 8C3-HRP:  $y = 1,0477x + 0,4405$ ;  $R^2 = 0,9815$ ;  
 4C6-HRP:  $y = 1,2807x + 2,6368$ ;  $R^2 = 0,9634$ ;  
 8D8-HRP:  $y = 1,0203x + 1,0163$ ;  $R^2 = 0,9739$ ;  
 6B9-HRP:  $y = 1,0226x + 0,3122$ ;  $R^2 = 0,9824$

že všechny komponenty jsou stabilní nejméně 12 měsíců při 2–8 °C.

#### Optimalizovaný postup

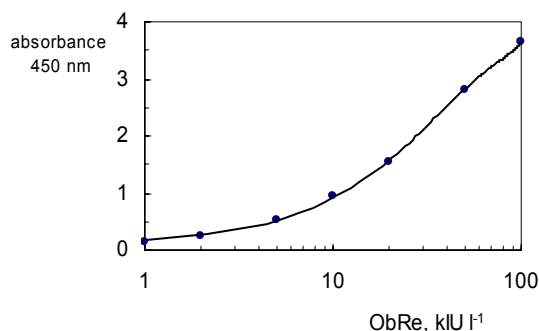
Purifikovaná monoklonální protilátka 7B3H9 byla rozpuštěna v 0,1 M karbonátovém pufru, pH 8,5, v koncentraci 2–5 mg l<sup>-1</sup> a vázána na mikrotitrační destičky Corning Costar, High Binding přes noc při 4–8 °C. Mikrotitrační destičky byly promyty roztokem TBS-Tween 20 a případná volná vazebná místa byla zablokována roztokem TBS-BSA-sacharosa (0,05 M Tris, 0,15 M NaCl, pH 7,2; 0,5 % BSA – hovězí sérový albumin; 4 % sacharosa).

Vzorky, standardy a kontrolní séra se ředí v poměru 1:3 ředícím roztokem.

100 μl naředěných standardů (2, 5, 10, 20, 50, 100 kIU l<sup>-1</sup>, kontrolních sér a vzorků se pipetuje do příslušných jamek na mikrotitrační desce. Mikrotitrační destička se inkubuje při pokojové teplotě po dobu 1 h za současného třepání na orbitální třepačce. Následuje promytí jamek promývacím roztokem TBS-Tween 20 (0,05 M Tris, 0,1 M NaCl, 0,05 % Tween 20, pH 7,2; 3 × 0,35 ml každou jamku).

Přidá se 100 μl roztoku konjugátu 1A9F8-HRP (koncentrace 0,4 ng l<sup>-1</sup>) ve stabilizačním roztoku. Deska se inkubuje při pokojové teplotě po dobu 1 h za současného třepání na orbitální třepačce. Následuje promytí jamek promývacím roztokem TBS-Tween 20 (0,05 M Tris, 0,1 M NaCl, 0,05 % Tween 20, pH 7,2; 3 × 0,35 ml každou jamku).

Přidá se 100 μl roztoku substrátu TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1,2 mM tetrametylbendidin s obsahem 3 mM peroxidu vodíku, KPL, katalogové číslo 52 00 01) a deska se inkubu-



Obr. 2. Typická kalibrační křivka ObRe

je 5–10 min při pokojové teplotě (asi 25 °C; pokud je reakční teplota 20 °C a méně, může být inkubační doba prodloužena až na 20 min).

Enzymová reakce se ukončí přidávkem 100 μl zastavovacího roztoku (0,2 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) a změří se absorbance při 450 nm.

Koncentrace ObRe ve vzorcích se odečte z kalibrační křivky (obr. 2)

#### Analytické charakteristiky soupravy ELISA pro stanovení ObRe

Pro ověření funkčnosti Ob-Re ELISA byla testována také správnost a přesnost metody. Správnost metody byla ověřena metodou standardního přídatku a byla zjišťována výtěžnost, vyjádřená jako poměr získané/očekávané hodnoty koncentrace Ob-Re. Ke čtyřem vzorkům séra byl přidáván rekombinantní ObRe/Fc a následně byly vzorky změřeny. Průměrná hodnota výtěžnosti byla 85,1 %. V testu linearitě byly testovány další tři sérové vzorky, které byly sériově ředěny 2×, 4× a 8×, přičemž průměrná hodnota výtěžku byla 101 %.

Přesnost metody byla testována jako opakovatelnost výsledků u 3 sérových vzorků a vyjádřena jako variační koeficient v sérii ( $n=8$ ) i reprodukovatelnost mezi sériemi měření ( $n=3$ ). Hodnota variačního koeficientu (CV) byla ve všech případech < 7,5 %.

Mez stanovitelnosti metody, představující nejnižší stanovitelnou koncentraci Ob-Re, byla 1 kIU l<sup>-1</sup> (tato hodnota je vyjádřením koncentrace Ob-Re, odpovídající absorbanci vypočítané podle vzorce: průměrná hodnota absorbance slepého vzorku ( $n=8$ ) + 3× směrodatná odchylka průměru slepého vzorku). Mez detekce (CV < 10 %), byla 5 kIU l<sup>-1</sup> (vzorky s hodnotami Ob-Re vyššími měly hodnotu CV < 10 %).

Vliv leptinu na hodnoty ObRe v séru byl testován přidávkem 1000 mg l<sup>-1</sup> leptinu ke standardům nebo k séru; tento přídatek neovlivnil hodnoty ObRe.

### Klinické testování soupravy

V rámci tohoto testování byl vyšetřen soubor 568 osob (217 mužů a 351 žen), průměrného věku 43,4 let (minimum 1 rok, maximum 91 let). Jedince bylo možno charakterizovat jako osoby s mírnou hypercholesterolémií, hraniční glykemií a hraniční hodnotou BMI.

50 % hodnot ObRe u dospělé populace se pohybovala mezi 20–127 kIU l<sup>-1</sup> s mediánem 30,8 kIU l<sup>-1</sup> (nenormální rozložení).

Jediné významné souvislosti, které byly u ObRe nalezeny, byly negativní korelace mezi koncentrací ObRe a insulinem ( $-0,43$ ;  $P = 0,02$ ) a ObRe a aterogenním indexem plasmy (AIP, cit.<sup>6</sup>) ( $0,4$ ;  $P = 0,02$ ). ObRe však vysvětloval pouze 19 % variability AIP, proto jej nebylo možno pro predikci využít. Nebyly zjištěny korelace mezi ObRe a leptinem. Nepodařilo se nalézt významné rozdíly v koncentraci ObRe mezi muži a ženami.

Po rozdělení pacientů podle věku bylo zjištěno, že po narození byly hodnoty ObRe velice nízké, poté stoupaly s vrcholem mezi 5.–10. rokem věku a poté opět klesaly; změny však nebyly statisticky významné.

Závěrem lze říci, že námi zjištěné nálezy odpovídají literárním informacím a v současné době probíhá CE certifikace soupravy pro rutinní klinické použití.

### Závěr

Byla navržena, optimalizována a validována diagnostická souprava na stanovení ObRe.

V době přípravy naší práce nebyl k dispozici žádný komerčně dostupný rutinní postup na stanovení koncentrace solubilního leptinového receptoru ELISA v krvi. Existovaly pouze možnosti stanovení exprese Db genu (např.

pomocí PCR, Western blottingu, hybridizace *in situ*, ev. imunocytohistochemie). V soupravě bylo použito dvou protilátek proti intaktnímu ObRe, což bylo v době vývoje soupravy ojedinělé.

Z klinického testování vyplývá, že leptinový receptor pravděpodobně hraje společně s leptinem a dalšími působky tukové tkáně významnou úlohu při vzniku poruch energetické homeostázy.

### LITERATURA

1. Axelsson J., Heimburger O., Lindholm B., Stenvinkel P.: *J. Ren. Nutr.* 15, 131 (2005).
2. Barr V. A., Lane K., Taylor S. I.: *J. Biol. Chem.* 274, 21416 (1999).
3. Belouzard S., Delcroix D., Rouille Y.: *J. Biol. Chem.* 279, 28499 (2004).
4. Friedman J. M.: *Eur. J. Med. Res.* 2, 7 (1997).
5. Yang G., Ge H., Boucher A.: *Mol. Endocrinol.* 18, 1354 (2004).
6. Dobiášová M., Frohlich J.: *Vnitř. Lék.* 46, 152 (2000).

**D. Stejskal<sup>a</sup> and I. Svoboda<sup>b</sup>** (<sup>a</sup>*Department of Laboratory Medicine, Hospital, Šternberk*, <sup>b</sup>*Biovendor, Brno*):  
**Analysis of Soluble Leptin Receptor by a New ELISA Method**

The article deals with the development, composition, validation and clinical testing of the first ELISA method for leptin receptor serum analysis. First results of clinical testing suggest that the receptor could be one of the diagnostic keys for metabolic homeostasis.

## CHEMICKÁ A PALIVOVÁ CHARAKTERISTIKA ANAEROBNĚ STABILIZOVANÉHO ČISTÍRENSKÉHO KALU A JEHO POPELA

MILOSLAV HARTMAN, MICHAEL POHOŘELÝ  
a OTAKAR TRNKA

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

Došlo 26.9.05, přijato 4.11.05.

Klíčová slova: anaerobně stabilizovaný čistírenský kal,  
hrubé a elementární analýzy, složení a tavitelnost popela

### Úvod

Kal je nevyhnutelným a velice obtížným odpadem každé mechanicko-biologické technologie pro čištění odpadních vod<sup>1–4</sup>. Vedle nežádoucích složek z odpadní vody obsahuje také biomasu z biologického čištění. Je všeobecně přiznáváno, že dosud neexistuje žádný univerzální proces pro efektivní zpracování, využití nebo likvidaci čistírenských kalů. Jakákoliv manipulace se surovým kalem je komplikována vysokým podílem vody (nízkým obsahem sušiny), odpudivým zápachem, možnou přítomností toxických látek (např. persistentní organické látky a těžké kovy) a přítomností patogenních mikroorganismů. Produkované objemy čistírenských kalů jsou enormní a náklady na jejich zpracování a dopravu jsou mimořádné. Např. země EU (před rozšířením) produkovaly přibližně 10 milionů tun kalové sušiny za rok s každoročním nárůstem kolem 300 tisíc t sušiny<sup>1</sup>. Náklady na likvidaci kalů představují 40–50 % z celkových nákladů na ČOV (cit.<sup>3</sup>). Kalové hospodářství, zejména využití nebo likvidace kalu, je u většiny čistíren odpadních vod limitujícím faktorem jejich provozu<sup>4</sup>. Principiální schéma tvorby a zpracování čistírenského kalu je znázorněno na obr. 1.

Vzhledem k tomu, že kal je velmi řídkou vodnou suspenzí, je prakticky ve všech technologiích primární operací separace vody, tj. zahušťování a odvodňování kalu jak surového, tak i stabilizovaného. Nutnou operací je dále stabilizace surového kalu, obvykle zahrnující i současnou hygienizaci, tj. usmrcení potenciálně patogenních mikroorganismů v kalu původně přítomných.

Ve velkých jednotkách se surový kal zpracovává obvykle anaerobní stabilizací (methanizací, digesí, vyhánáním) při mezofilních (teplota kolem 35 °C) či termofilních podmínkách (teplota přibližně 55 °C). Termofilní anaerobní stabilizace kalu při zmíněné teplotě patří mezi zaváděné efektivní technologie zpracování kalu. V procesu se část

organických látek rozkládá na kalový plyn či bioplyn (CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> aj.) za současné stabilizace a hygienizace kalu. Vyčištěný bioplyn představuje významný energetický zdroj a využívá se k výrobě tepla i elektrické energie.

Aktuálně se jeví jako základní tři způsoby využití či likvidace čistírenských kalů. Přirozená i ekonomická se zdá být jejich aplikace (recyklace) do půdy v zemědělství či lesnictví. Požadavek hygienické nezávadnosti je však imperativum, které musí být respektováno. Ukládání na skládky vyžaduje vedle bezpečného úložiště snížení podílu vody (< 65 hm.%) a nízký obsah organické sušiny v kalu<sup>1</sup> (< 5 hm.%). Slibné je tepelné zpracování buď surového (nestabilizovaného) kalu, nebo kalu stabilizovaného (obvykle anaerobně) s cílem maximálního využití jeho energetického obsahu.

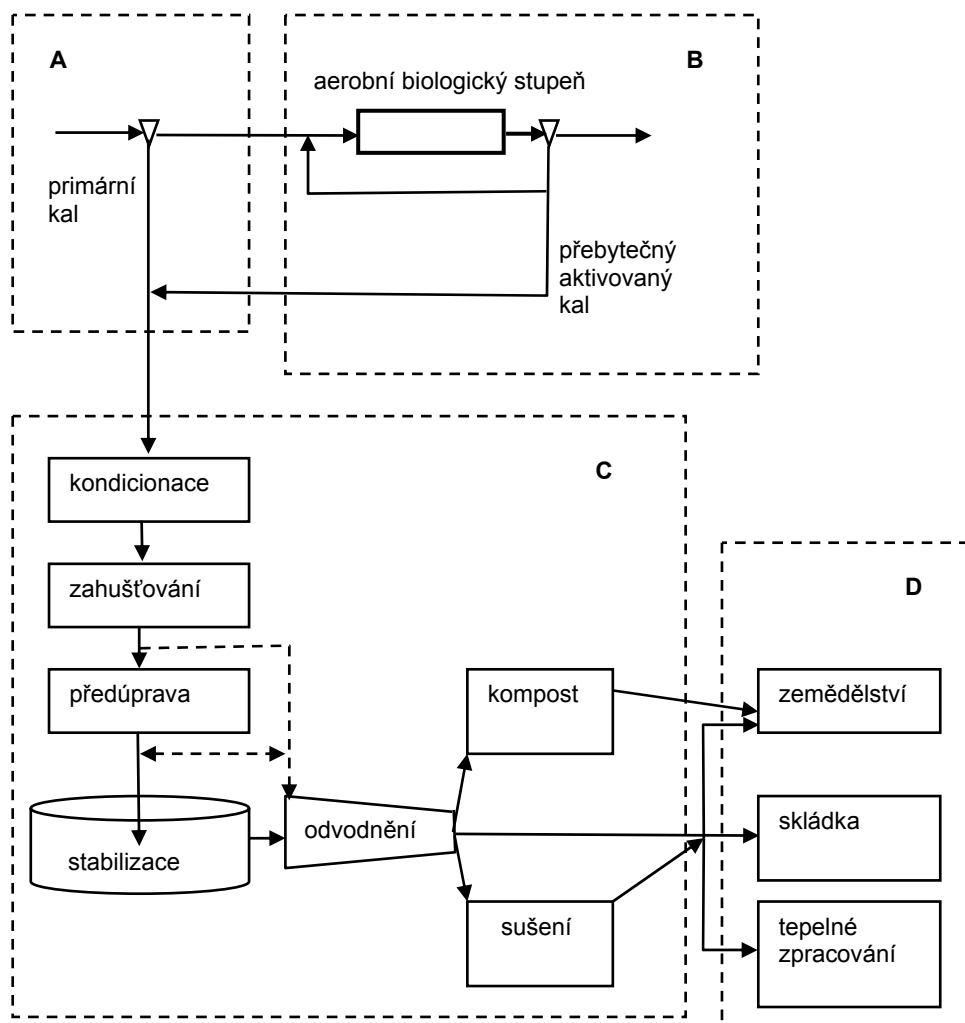
Různé způsoby tepelného zpracování čistírenských kalů lze rozčlenit na samostatné spalování, spoluspalování a na alternativní procesy<sup>1,2,5–10</sup>. Vzhledem k velkému výparnému teplu vody ( $r_{\text{H}_2\text{O}}(298\text{ K}) = 2,442\text{ MJ kg}^{-1} = 43,99\text{ kJ mol}^{-1}$ ) je pro hladký chod spalovacího procesu důležitý obsah vody v kalu a výhřevnost jeho sušiny. Naše zkušenosti se spalováním mokrého kalu, jehož sušina má výhřevnost 10 MJ kg<sup>-1</sup>, ukazují, že hoření je autarkní (tepelně samonosné), když kal obsahuje méně než 40–45 hm.% vody. S přihlédnutím k energetické náročnosti sušení kalu (obsah vody musí být po sušení menší než 10 hm.%) se jako velmi slibné zdá být spoluspalování mokrého kalu ve stávajících, většinou fluidních kotlích na hnědé uhlí. Ukazuje se, že ještě při přibližně 10% podílu mokrého kalu v proudě paliva vstupujícího do kotle, nejsou provoz kotle ani účinnost linky pro čištění spalin významně ovlivněny.

Cílem této studie bylo získat základní informace o chemických a environmentálních aspektech anaerobně stabilizovaných kalů produkovaných velkými čistírnami komunálních odpadních vod v České republice. Věříme, že prezentované poznatky napomohou překonat četná technická i ekologická úskalí při využití (a likvidaci) obtížného čistírenského kalu zejména termickými procesy jako paliva nebo v zemědělství jako organického hnojiva.

### Experimentální část

#### Odběr vzorků

Vzorky kalu po jeho termofilní anaerobní stabilizaci byly odebrány bezprostředně po jeho odvodnění dekantačními odstředivkami, příp. kalolisy nebo síto-pásovými filtry. Pro odběry byly zvoleny čtyři velké čistírny komunálních odpadních vod (akronymy Br, Li, Pl a Pr) s vyspělými technologiemi. Největší z nich (Pr) produkuje přibližně 90 t kalové sušiny za den, obsah organických látek v sušině se pohybuje mezi 45 a 50 hm.%. V tomto závodě byly odebrány a srovnávány vzorky v období „zima“ (leden – únor) a „léto“ (červenec – srpen). Významné rozdíly ve vlastnostech a složení kalu produkovaného v různých ročních obdobích však zjištěny nebyly. Hodnoty veličin uvedených pro tento kal jsou průměrem



Obr. 1. Schéma tvorby a zpracování čistírenského kalu<sup>3</sup>; A – primární (mechanické) čištění odpadních vod, separace suspendovaných látek; B – biologické aerobní čištění s recyklem aktivovaného kalu a odvodem přebytečného aktivovaného kalu; C – operace úpravy a stabilizace kalu; D – způsoby využití a likvidace kalu

hodnot naměřených se vzorky pro různá roční období.

Odebrané vzorky kalu byly hnědo-černé barvy vyvolané přítomností sulfidů železa a sulfidů dalších kovů. Po fyzikální stránce představovaly vzorky amorfni neplastický materiál, tvořený různorodou směsí zrnitých a koloidních látek. Vzorky měly charakteristický odér, po stránce hygienické však byly nezávadné. Vzhledem, ani pachem se jednotlivé vzorky kalu odebrané ve čtyřech velkých městech nelišily. Materiály byly uchovávány v uzavřených nádobách a skladovány při teplotě 0 °C. Vzhled vzorků, ani jejich pach, se s délkou skladování neměnily.

#### Pracovní postup

V průběhu práce byl vykonán značný objem chemických

rozborů i fyzikálních měření na odebraných vzorcích kalu. Tyto práce byly realizovány ve specializovaných laboratořích VŠCHT Praha (Ústav energetiky, Centrální laboratoře a Laboratoř termické analýzy), v laboratořích Ústavu pro výzkum a využití paliv Běchovice a na pracovištích AV ČR v Praze (Ústav chemických procesů, Geologický ústav a Ústav anorganické chemie). Ve všech případech byly aplikovány více či méně standardní, ověřené a osvědčené pracovní / analytické metody a procedury. Opakované analýzy prokázaly dobrou reprodukovatelnost výsledků. V několika případech jsme měli možnost porovnat některé výsledky našich analýz s výsledky vždy velmi dobře vybavených laboratoří podnikových. Souhlas porovnávaných dat byl v daných situacích velmi dobrý.

## Výsledky a diskuse

### Sušení

Měření byla realizována s tenkými vrstvami odvodněného kalu se vzorky o hmotnosti přibližně 1 g v laboratorní sušárně s citlivou regulací teploty v mírném proudu vzduchu. Naměřené relativní úbytky hmotnosti jsou prezentovány na obr. 2 a 3. Jak je zřejmé z obr. 2, vliv teploty na relativní úbytek hmotnosti vzorků exponovaných po dobu 120 min při teplotách nad 70 °C je už velmi slabý a dosahuje hodnot 0,700 (kal Pr) a 0,735 (kal Pl). Sušicí křivka na obr. 3 je konkávní v celém svém průběhu a indikuje, že v procesu sušení rychlost uvolňování a odstraňování vody z kalu klesá. Tyto poznatky byly potvrzeny následnými izotermickými TGA měřeními na přístroji TG-750 Stanton-Redcroft<sup>11,12</sup>. Sušicí (časové) křivky si byly pro teploty vyšší než 70 °C velmi blízké. Za sušinu je považován tuhý zbytek získaný sušením při 105 °C do konstantní hmotnosti. Naše zkušenosti ukazují, že doba sušení 2 h je pro tento požadavek dostatečně konzervativní. Bohužel naše laboratorní vybavení nám neumožňovalo zjistit, zda v takto vysušeném kalu ještě nějaká voda zbývá či nikoli.

### Výsledky TGA a DTA

Byly získány měřeními s vysušeným kalem Pr na výše zmíněném přístroji Stanton-Redcroft. Zvolené malé navážky vzorků (14,3 a 14,9 mg), pomalý ohřev (3 °C min<sup>-1</sup>) a přiměřený průtok nosného plynu vedly k potlačení nežádoucích vlivů přenosu tepla a hmoty na rychlost pochodů

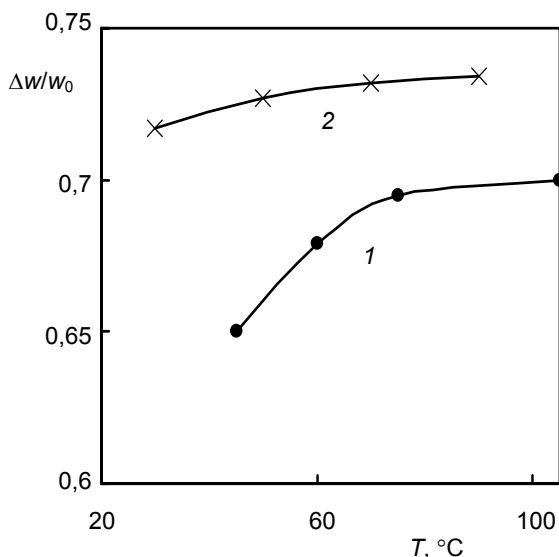
v kalových částicích.

TGA křivky jsou prezentovány na obr. 4. Křivka 1 reprezentuje výsledky pro případ, kdy byl použit jako nosný plyn vzduch, křivka 2 postihuje situaci, ve které nad vzorkem protékal inertní argon. V počátečních stadiích ( $T < 200$  °C) jsou obě křivky shodné a rychlost uvolňování prchavé hořlaviny není ovlivněno atmosférou. Jak indikují analogické křivky DTA na obr. 5, tento proces je zřetelně endotermní. Obě křivky 1 na obr. 4 a 5 ukazují, že k zážehu a spalování kalu v oxidačním prostředí dochází při teplotě mezi 200 a 250 °C a maximální rychlosti hoření je dosaženo kolem 300–330 °C. Relativní hmotnosti tuhých zbytků po vyžhání v inertní i v oxidační atmosféře zůstávají značné (0,56–0,58) a jsou si velmi blízké. Tyto skutečnosti jsou vyvolány dříve zjištěnými fakty o vysoké popelnatosti kalu a o vysokém podílu prchavé hořlaviny v něm.

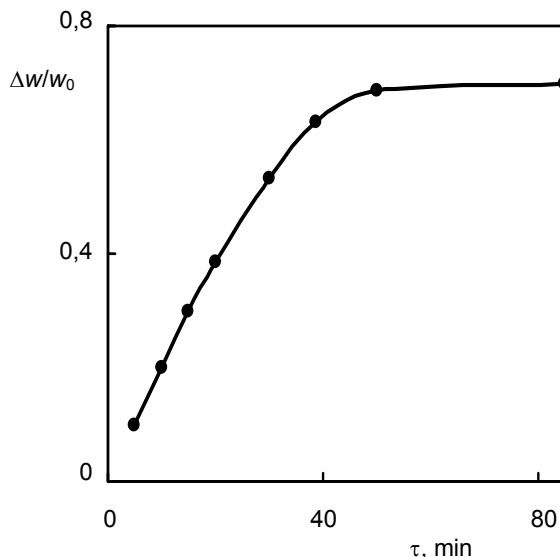
Termogravimetrická měření byla doplněna analýzou plynu uvolňovaného během ohřevu kalu v proudu argonu. S použitím kvadrupolového hmotového spektrometru QMS 403/4 (Balzers) byl pyrolýzní plyn charakterizován jako pestrá směs reakčních produktů obsahující zejména methan, ethan, amoniak, oxidy dusíku a oxid uhličitý. Velmi pravděpodobná je také přítomnost malého množství vodíku, sulfanu, oxidu siřičitého a benzenu.

### Hrubé a elementární analýzy

Výsledky hrubých (rámcových, palivářských) rozborů, provedených uzančnými postupy v Ústavu energetiky (VŠCHT Praha) a v ÚVP Běchovice, jsou uvedeny



Obr. 2. Relativní úbytek hmotnosti,  $\Delta w/w_0$ , stabilizovaných, mechanicky odvodněných (mokrých) kalů sušením v tenké vrstvě v závislosti na teplotě,  $T$ ; 1 – kal Pr, 2 – kal Pl; vzorky byly sušeny v laboratorní sušárně v mírném proudu vzduchu po dobu 120 min



Obr. 3. Relativní úbytek hmotnosti,  $\Delta w/w_0$ , stabilizovaného mechanicky odvodněného (mokrého) kalu Pr, sušeného v tenké vrstvě při 75 °C, v závislosti na délce doby sušení,  $t$ ; vzorek sušen v laboratorní sušárně v mírném proudu vzduchu

Tabulka I

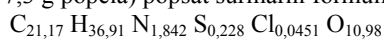
Hrubé (rámcové, palivové) analýzy sušiny anaerobně stabilizovaného čistírenského kalu (hodnoty jsou uvedeny v hm.%)

Složka	Kal				Průměrná hodnota
	Pr	Br	Li	Pl	
Prchavá hořlavina	41,05	45,96	43,86	37,89	42,19
Neprchavá hořlavina (uhlík)	4,99	6,30	8,74	12,31	8,08
Popel	53,96	47,74	47,48	49,80	49,73
Spalné teplo, MJ kg <sup>-1</sup>	10,37	11,03	11,87	11,69	11,24
Výhřevnost, MJ kg <sup>-1</sup>	9,57	10,12	10,99	10,87	10,39

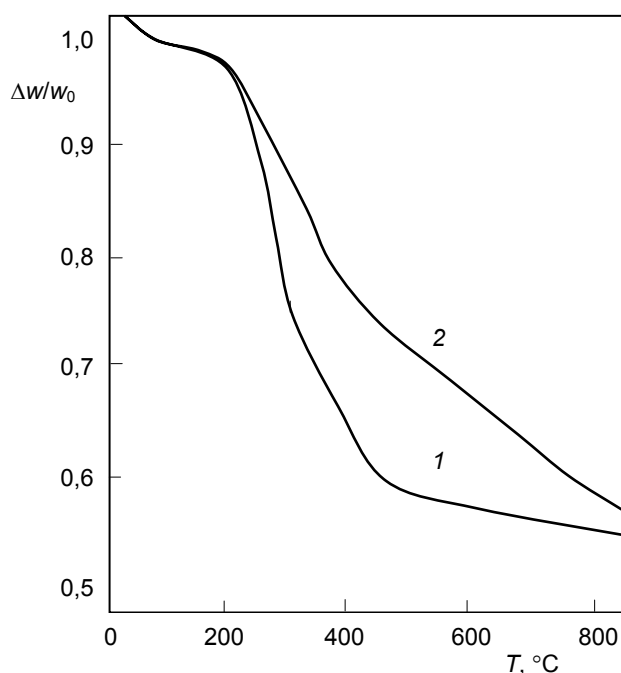
v tabulce I. Jak je vidět z této tabulky, podíl prchavé hořlaviny kolísá od 38 do 46 hm.%, obsah neprchavé hořlaviny (fixního uhlíku, koksíku) se pohybuje od 5 do 12 hm.% a podíl popela se mění mezi 47 a 54 hm.%. Jednotlivé hodnoty výhřevnosti 9,6–11,0 MJ kg<sup>-1</sup> jsou velmi blízké hodnotám výhřevnosti udávaných pro energetická hnědá uhlí různá provenience.

Elementární (prvkové) rozbor byly realizovány v Laboratoři elementární organické analýzy (VŠCHT Praha). Prvky uhlík, vodík a dusík byly stanoveny na analyzátoru CHN Perkin-Elmer 2400. Pro stanovení chloru a síry byly vzorky spáleny v kyslíko-vodíkovém plameni na Wickboldově aparatuře. Zjištěné obsahy jednotlivých prvků uvedených v tabulce II v hm.% se pohybují v následujícím rozsahu: uhlík 23,8–26,6, vodík 3,5–3,9, dusík

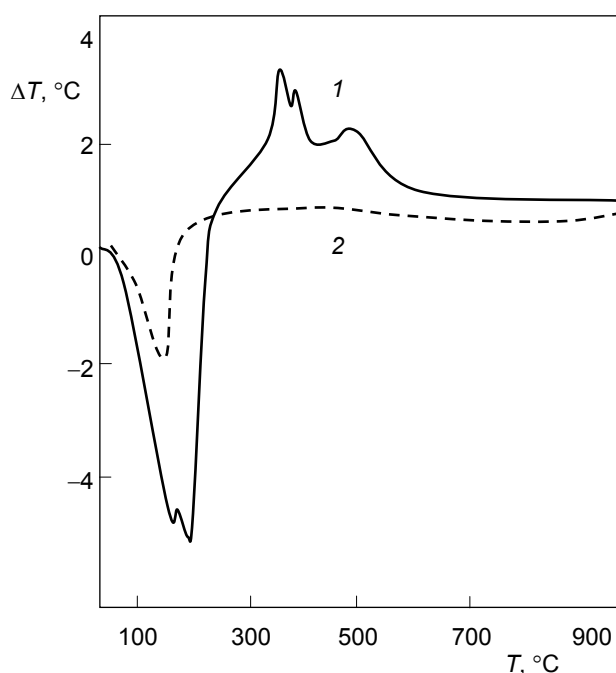
2,24–2,97, síra 0,47–0,86 a chlor 0,05–0,22. S použitím středních hodnot obsahů jednotlivých složek lze 1 kg typické kalové sušiny (obsahující 502,7 g organických látek a 497,3 g popela) popsat surmární formulí:



Z environmentálního hlediska je pro kal charakteristický značný obsah organického dusíku. Opomenout však nelze ani nízké, ale významné podíly organické síry a chloru. S použitím sumárního vzorce uvedeného výše lze napsat stechiometrickou rovnici pro dokonalé spálení kalu, jež potom spolu s látkovými bilancemi slouží jako základ veškerých palivářských výpočtů (např. potřebné množství vzduchu, množství a složení spalin apod.). Předpokládáme-li že 10 % organického dusíku přítomného v kalu se zoxiduje na NO<sub>x</sub> (NO<sub>1,1</sub>), je pro úplné (teoretické, stochio-



Obr. 4. Termogravimetrické výsledky (TGA) pro vysušený kal Pr; relativní hmotnost vzorku,  $w/w_0$  vs. teplota,  $T$ ; rychlost ohřevu 3 °C min<sup>-1</sup>, průtok nosného plynu 20 cm<sup>3</sup> min<sup>-1</sup>, počáteční hmotnost vzorku 14,3 mg (křivka 1, nosný plyn vzduch), a 14,9 mg (křivka 2, nosný plyn dusík)



Obr. 5. DTA výsledky pro mokrý kal (68 hm.% H<sub>2</sub>O, kal Pl); 1 – oxidační prostředí (vzduch), 2 – inertní prostředí (dusík), počáteční hmotnost vzorku 60 mg, rychlost ohřevu 5 °C min<sup>-1</sup>, průtok nosného plynu 20 ml min<sup>-1</sup>, srovnávací vzorek Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>



Tabulka II

Elementární (prvkové) analýzy sušiny anaerobně stabilizovaného čistírenského kalu (hodnoty jsou uvedeny v hm.%)

Složka	Kal				Průměrná hodnota
	Pr	Br	Li	Pl	
Uhlík	23,84	24,76	26,51	26,60	25,43
Vodík	3,54	3,76	3,90	3,68	3,72
Dusík (org.)	2,24	2,40	2,97	2,72	2,58
Dusík (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )	0,064	0,016	0,16	0,10	0,085
Síra (org.)	0,84	0,47	0,74	0,86	0,73
Chlor	0,13	0,22	0,22	0,05	0,16
Kyslík	15,39	20,63	18,10	16,19	17,57

metrické) spálení 1 kg suchého kalu zapotřebí 25,23 mol kyslíku, což odpovídá měrné spotřebě vzduchu 3,47 kg kg<sup>-1</sup>. Ve srovnání s běžným uhlím je tato hodnota značně nižší a souvisí s vysokou popelnatostí kalu i s nízkým obsahem neprchavé hořlaviny (fixního uhlíku).

Vedle hrubých a elementárních analýz kalu byly v něm přítomné organické látky velmi stručně charakterizovány plynovou chromatografií (Centrální laboratoř ÚChP, systém GC/MS HP6890/HP5973) a infračervenou spektroskopií s Fourierovou transformací (Laboratoř molekulové spektroskopie, VŠCHT Praha; přístroj NICOLET 740). Vzorky byly extrahovány acetonem, tetrachlormethanem, toluenem a chloroformem.

Získané chromatogramy naznačily přítomnost velkého množství izomerních homologických nearomatických látek, zejména uhlovodíků a jejich derivátů s počtem uhlíků  $N_C \geq 10-15$ . Podíl aromátů je nízký ( $\leq 10$  hm.%), přítomny jsou též steroidní látky.

V odparcích extraktů kalů byly IČ spektroskopií identifikovány tyto organické složky: skupiny CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> v alifatických uhlovodíkových řetězcích, CO (estery), C=O (organické kyseliny), -COO (soli organických kyse-

lin) a aromatické kruhy. Tato zjištění nejsou v rozporu s výsledky plynové chromatografie. IČ spektra též potvrdila přítomnost značného podílu anorganického materiálu v kalu. Byly nalezeny tyto složky: křemičitan typu kaolini, fosforečnan, dusičnan a uhličitán.

#### Obsah těžkých kovů v kalu

Přítomnost těžkých kovů v čistírenských kalech je pravděpodobně klíčovým faktorem pro posouzení, zda je možno stabilizovaný kal recyklovat do půdy (zemědělství, lesnictví nebo sanace půd). Proto byl pro analýzy sestaven široký seznam deseti zájmových těžkých kovů: arsen, chrom, kadmium, kobalt, měď, molybden, nikl, olovo, rtuť a zinek. Pro tepelné zpracování kalu je významná i jejich těkavost, tj. jejich tendence přecházet do plynné fáze. Velmi těkavá je rtuť, více či méně těkavé jsou olovo, kadmium a arsen, v redukčních podmínkách téká též zinek.

Zjištěná množství těžkých kovů ve vysušených kalech jsou uvedena v tabulce III. Nejvíce jsou zastoupeny zinek ( $\sim 10^3$  mg kg<sup>-1</sup>), měď a chrom ( $\sim 10^2$  mg kg<sup>-1</sup>), následují olovo, nikl a kobalt ( $\sim 10$  mg kg<sup>-1</sup>). Na úrovni 10<sup>-1</sup> mg kg<sup>-1</sup>

Tabulka III

Obsah těžkých kovů v anaerobně stabilizovaném čistírenském kalu (hodnoty jsou uvedeny v mg na 1 kg sušiny)

Složka	Kal			Průměrná hodnota
	Pr	Br	Pl	
Arsen		1,7	10,3	6
Chrom	227	92	89	136
Kadmium	3,8	1,7	2,3	2,6
Kobalt	9,3	6,5	9,2	8,3
Měď	298	197	209	235
Molybden		1,9	5,8	3,9
Nikl	46,5	76	43	55
Olovo	81	62	60	68
Rtuť	3,8	4,2	4,6	4,2
Zinek	1612	1275	622	1170

Tabulka IV

Obsah obtížných organických látek v anaerobně stabilizovaném čistírenském kalu (hodnoty jsou uvedeny v mg na 1 kg sušiny)

Složka	Kal		Průměrná hodnota
	Br	Pl	
Adsorbovatelné organicky vázané halogeny, AOX	306	148	227
Polycyklické aromatické uhlovodíky, PAH	7,3		7,3
Polychlorované bifenyle, PCB	0,19	0,38	0,29

Tabulka V

Základní analýzy popela čistírenského kalu (hodnoty jsou uvedeny v hm.%)

Prvek	Kal				Průměrná hodnota
	Pr	Br	Li	Pl	
Křemík	16,3	14,7	15,2	17,9	16,0
Hliník	6,2	9,9	11,4	19,9	11,9
Železo	9,6	8,2	14,1	3,9	9,0
Titan	0,34				
Vápník	11,4	25,6	4,5	1,9	10,9
Hořčík	1,3	8,0	9,8	1,6	5,2
Sodík	0,51	0,17	0,26	0,39	0,33
Draslík	1,4	0,62	0,67	2,4	1,27
Fosfor	5,2	5,8	6,6	4,0	5,4

jsou přítomny arsen, rtuť, molybden a kadmium. Do těchto koncentračních kategorií velmi dobře zapadají i průměrné obsahy těžkých kovů uváděných pro kaly z čistíren německých<sup>1</sup>. Obsahy arsenu, kobaltu a molybdenu se však z německých zdrojů zjistit nepodařilo.

Pro hodnocení ekologické obtížnosti kalů je významná i přítomnost určitých organických látek jako jsou adsorbovatelné organicky vázané halogeny (AOX), polycyklické aromatické uhlovodíky (PAH) a polychlorované bifenyle (PCB). Pro kaly Br a Pl jsou obsahy těchto obtížných organických látek uvedeny v tabulce IV. Ve světle limitních koncentrací těchto škodlivin<sup>13</sup> nejsou nalezené obsahy nepřijatelné.

#### Složení a tavitelnost popela

Vzorky popela byly připraveny žháním tenké vrstvy vysušeného kalu v muflové peci při 900 °C v oxidační atmosféře po dobu dvou hodin. V získaném popelu byly stanoveny obsahy křemíku, hliníku, železa, titanu, vápníku, hořčíku, sodíku, draslíku a fosforu. Výsledky analýz jsou prezentovány v tabulce V. Jak je ze zjištěných hodnot patrné, celkové analytické obrazy popelů různé proveniencce jsou, až na několik výjimek, velmi podobné. Nejvíce jsou zastoupeny křemík, hliník a železo, charakteristický je také značný obsah fosforu. Významná je též přítomnost kovů alkalických zemin a alkálií.

Vzhledem k tomu, že se spalování suchého kalu

v cementářské peci jeví jako slibný způsob jeho využití a likvidace, je zajímavá konfrontace se složením cementářského slínku. Ve srovnání s cementem popel z kalu obsahuje značně větší podíly křemíku, hliníku, železa a hořčíku a mnohem méně vápníku než cement. Problematická mohou být též větší zastoupení alkálií a fosforu v popelu.

K identifikaci sloučenin v popelu byla využita rentgenová difrakční analýza s přístrojem X'Pert Philips Analytical. Ukazuje se, že převažující složkou popela je křemen (SiO<sub>2</sub>) a že je v popelu silně zastoupen hematit (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>). Dále byly zjištěny živce (anortit CaAl<sub>2</sub>Si<sub>2</sub>O<sub>8</sub> a albit KAl(Si<sub>3</sub>O<sub>8</sub>)<sub>2</sub>), slidy (muskovit KAl<sub>2</sub>Si<sub>3</sub>AlO<sub>10</sub>(OH)<sub>2</sub>, flogopit KMg<sub>3</sub>Si<sub>3</sub>AlO<sub>10</sub>(OH)<sub>2</sub>, a biotit K(Fe,Mg)<sub>3</sub>Si<sub>3</sub>AlO<sub>10</sub>(OH)<sub>2</sub>), apatit (Ca<sub>5</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>(F, Cl, OH)) a anhydrit (CaSO<sub>4</sub>).

Pro tepelné procesy je důležité, jak popel z kalu odolává vysokým teplotám. Uzančeními postupy byly proto v ÚVP Běchovice provedeny zkoušky tavitelnosti popela z kalu v oxidačním prostředí. Pro srovnání byla zároveň realizována stejná měření s keramzitem. Keramzitem se označuje inertní, granulovaný materiál vzniklý vysokoteplotním výpalem uhlíkatého, jílového nadloží hnědouhelných vrstev. Výsledky naměřené s oběma materiály jsou uvedeny v tabulce VI.

Z dat v tabulce VI je vidět, že popel z kalu tak dobrou tepelnou odolnost jako keramzitem nevykazuje. Tato skutečnost pravděpodobně souvisí s vyšším obsahem hliníku a titanu a nižším obsahem alkalických kovů v keramzitu. Naše dlouhodobé zkušenosti<sup>6</sup> se spalováním kalu ve fluid-

## Tabulka VI

Srovnání tepelné odolnosti popela ze stabilizovaného čistírenského kalu a inertního keramzitu<sup>a</sup> v oxidační atmosféře

Teplota počátku změn [°C]	Kal		Keramzit
	Pr	Br	
Sintrování	986	940	1155
Měknutí	1126	1201	1305
Tavení	1267	1253	1370
Tečení	1291	1272	1390

<sup>a</sup> Jílovitá, uhlík obsahující hornina z nadloží uhelných vrstev vyžíhaná v oxidačním prostředí při 1000 °C

ni vrstvě prokazují, že popel z kalu při teplotách vrstvy kolem 950 °C se ještě nestává lepivým a neaglomeruje. Toto zjištění je v dobré shodě s daty získanými zcela jinou metodikou a prezentovanými v tabulce VI.

**Závěr**

Kaly odebrané ze čtyř velkých městských čistíren odpadních vod nevykazují ve složení ani ve svých vlastnostech relevantní rozdíly.

Mechanicky odvodněný, anaerobně stabilizovaný čistírenský kal obsahuje kolem 70 hm.% vody, kterou lze i za mírných podmínek sušení téměř všechnu odstranit. Vysušený kal je pestrým, mnohasložkovým materiálem, tvořeným rovným dílem látkami organickými a anorganickými.

Přítomnost organických látek a významný obsah hnojivových složek (dusík, fosfor, draslík, hořčík a vápník) předurčují slibný potenciál stabilizovaného čistírenského kalu pro jeho využití jako hnojiva / kypřidla pro zemědělské a lesnické půdy. Přítomnost těžkých kovů a některých toxických organických však tuto aplikaci kalu komplikuje. Z kovů je nejvíce zastoupen zinek, dále potom následují měď, chrom, olovo, nikl, kobalt, arsen, rtuť, molybden a kadmium.

Organický podíl kalu je převážně zastoupen málo isomernými alifatickými sloučeninami s desíti a více uhlíky s různými skupinami (karbonyly, karboxyly, oxidy, estery aj.). Aromatická frakce je tvořena hlavně deriváty benzenu (zejména fenol a ftaláty) a její zastoupení činí méně než 10 hm.%. Anorganický (aniontový) podíl kalů je tvořen křemičitany, fosforečnany, dusičnany a uhličitany.

Výhřevnost suchého, anaerobně stabilizovaného kalu činí 10–11 MJ kg<sup>-1</sup> a odpovídá výhřevnosti energetického hnědého uhlí. Vzhledem ke své reaktivitě a zastoupení je organický dusík náchylný k oxidačním reakcím. Významná je též tekavost některých kovů (rtuť, arsen, olovo a kadmium) i konverze síry na oxid siřičitý a přeměna chloru na chlorovodík při spalování.

Vedle kyslíku jsou nejvíce zastoupenými prvky v popelu z kalu křemík, hliník, železo, vápník, hořčík, fosfor a draslík. Ve srovnání s cementářským slínkem popel obsahuje více křemíku, hliníku i železa, a mnohem

méně vápníku než slínkem. V popelu převažuje křemen, silně je zastoupen hematit, přítomny jsou též živce, slídy, apatit a anhydrit. Popel z kalu nevykazuje žádné známky měknutí a lepivosti ještě při 950 °C.

**S e z n a m s y m b o l ů**

$N_C$	počet uhlíku v molekule
$r_{H_2O}$	výparné teplo vody, MJ kg <sup>-1</sup> , kJ mol <sup>-1</sup>
$T$	teplota, °C
$\Delta T$	teplotní diference, °C
$w$	hmotnost vzorku, g
$w_0$	počáteční hmotnost vzorku, g
$\Delta w$	úbytek hmotnosti vzorku, g
$\tau$	čas, min

*Tato práce vznikla za podpory Grantové agentury AV ČR (grant č. A4072201).*

**LITERATURA**

1. Werther J., Ogada T.: Prog. Energy Combust. Sci. 25, 55 (1999).
2. Hartman M., Svoboda K., Veselý V., Trnka O., Chour J.: Chem. Listy 97, 976 (2003).
3. Dohányos M.: Odpadové fórum 5, 8 (2004).
4. Zábranská J.: Odpadové fórum 5, 14 (2004).
5. Kutil J., Pospěch L.: Odpadové fórum 5, 19 (2004).
6. Hartman M., Svoboda K., Pohořelý M., Trnka O.: Ind. Eng. Chem. Res. 44, 3432 (2005).
7. Sängner M., Werther J., Ogada T.: Fuel 80, 167 (2001).
8. Manya J.J., Sánchez J.L., Gonzalo A., Arauzo J.: Energy & Fuels 19, 629 (2005).
9. Petersen I., Werther J.: Chem. Eng. Sci. 60, 4469 (2005).
10. Šponar J., Havlica J.: Chem. Listy 95, 424 (2001).
11. Hartman M., Trnka O., Veselý V., Svoboda K.: Chem. Eng. Commun. 185, 1 (2001).
12. Hartman M., Trnka O., Šolcová O.: Ind. Eng. Chem. 44, 6591 (2005).
13. Zuzánková M.: Odpadové fórum 5, 12 (2004).

**M. Hartman, M. Pohořelý, and O. Trnka**  
(*Institute of Chemical Process Fundamentals, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*): **Chemical and Fuel Characteristics of Anaerobically Stabilized Sewage Sludge and Its Ash**

Samples of the anaerobically stabilized sewage sludge from four large wastewater treatment plants and their ash were subjected to detailed chemical, fuel, and mineralogical examinations. Owing to their very high water contents, mechanically dewatered sewage sludge cannot be incinerated. Peculiar characteristics of the dried sewage sludge

include very high proportions of volatile matter, high contents of the fuel-bound nitrogen and ash, which can affect their combustion. Drying and devolatilization of sewage sludge were quite rapid even at moderate temperatures. Up to 80 % of the sludge carbon can be released with the volatiles. Due to nitrogen, phosphorus, potassium, and magnesium contents, municipal sludge exhibits good fertilizer properties. However, the presence of heavy metals such as As, Cd, Hg, Cr, Ni, Pb, Cu and Zn in sludge is a serious concern. The ash from sewage sludge consists of quartz, hematite, spar, mica, apatite, and anhydrite. It does not soften or becomes sticky at temperatures up to 950 °C.

## SPEKTROFOTOMETRICKÉ STANOVENÍ URANU(VI) V PŘÍTOMNOSTI UHLIČITANŮ A ŠŤAVELANŮ A JEHO VYUŽITÍ PRO SPECIAČNÍ ANALÝZU URANU (VI)

MILENA GERMANIČOVÁ a PŘEMYSL LUBAL

Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kotlářská 2, 611 37 Brno  
lupal@chemi.muni.cz

Došlo 25.2.05, přepracováno 8.11.05, přijato 8.12.05.

Klíčová slova: spektrofotometrické stanovení, uran(VI), uhličitany, šťavelany, umělé neuronové sítě, speciální analýza, minerální vody

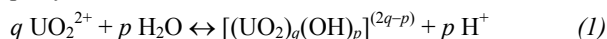
Věnováno prof. RNDr. Josefu Havlovi, Dr.Sc. k jeho 65. narozeninám.

### Úvod

Uran je přirozený radionuklid, který se v přírodě vyskytuje v různých formách (např. v mikroorganismech či minerálech uranu). Hlavní význam získal po druhé světové válce rozvojem jaderných technologií<sup>1</sup>. Uran patří mezi aktinoidy, které mají poměrně bohaté komplexotvorné vlastnosti<sup>2</sup>, kterých se využívá při jeho těžbě a dalším zpracování. V typickém technologickém postupu se uran koncentruje ve formě sulfátokomplexů  $[\text{UO}_2(\text{SO}_4)_n]^{2-2n}$  nebo karbonátokomplexů  $[\text{UO}_2(\text{CO}_3)_n]^{2-2n}$  na aniontových měničích iontů, z nichž je eluován  $\text{HNO}_3$ , a následně se pak dále zpracovává až na  $\text{UO}_2$  používaný jako palivo v jaderných elektrárnách<sup>1</sup>. V některých případech, kdy byla ruda o vyšším obsahu uranu obtížně přístupná, se použilo přímé loužení koncentrovanou kyselinou sírovou (převedení nerozpustných uranových minerálů na rozpustné sulfátokomplexy  $[\text{UO}_2(\text{SO}_4)_n]^{2-2n}$  s následným vypumpováním koncentrátu na povrch), což podstatně zvýšilo migraci uranu ve vodách a v současnosti představuje vážný ekologický problém<sup>3,4</sup>. Dalším významným zdrojem uranu v životním prostředí jsou radioaktivní odpady vznikající v jaderných elektrárnách, které se v dnešní době ukládají přímo do vhodného úložiště nebo se přepracovávají s následným využitím uranu a plutonia jako paliva (recyklace) a uložení odpadů vzniklých při jejich zpracování. Úložiště využívá soustavy přírodních i technických bariér, které zajišťují, aby radioaktivní materiály nepronikaly do biosféry (tzv. multibariérová koncepce<sup>5</sup>). Poslední a nejdůležitější bariérou je geologické prostředí hlubinného úložiště.

Uran existuje ve čtyřech oxidačních stupních jako

U(III), U(IV), U(V) a U(VI) (cit.<sup>1,6,7</sup>). V geochemii je nejdůležitější oxidační stupeň  $\text{U}^{4+}$ , který se v přírodě často oxiduje na  $\text{U}^{6+}$ , vytvářející uranylony ion  $\text{UO}_2^{2+}$ . Hydratovaný ion  $\text{UO}_2^{2+}$  je přítomen ve vodných roztocích při  $\text{pH} \leq 2,5$ , kdežto při vyšším  $\text{pH}$  a koncentracích  $\text{UO}_2^{2+} > 1 \mu\text{mol l}^{-1}$  začíná uranyl hydrolyzovat a tvořit polynukleární komplexy<sup>6-9</sup>:



rovnovážná konstanta této reakce je:

$$\beta_{p,q} = [(\text{UO}_2)_q(\text{OH})_p][\text{H}^+]^p[\text{UO}_2^{2+}]^{-q} \quad (2)$$

kde  $(p, q) = (1,1), (1,2), (2,2), (4,3), (6,4), (7,4), (8,5)$  (cit.<sup>6-9</sup>).

Ion uranulu(II) reakcí s uhličitany vytváří komplexy rozpustné ve vodě, které se mohou vyloužit, koncentrovat, případně reagovat s jinými ligandy za vzniku komplexů o různé stabilitě a rozpustnosti<sup>5-7,9-14</sup>. Těmi jsou v přírodě v první řadě uhličitany<sup>11,12</sup>, hydroxidy, fosforečnany, sírany a fluoridy<sup>5-7,9,10</sup> nebo huminové kyseliny<sup>5,10,15</sup>. Každý ligand vytváří s iontem uranulu(II) komplexy o různém složení a stabilitě v závislosti na experimentálních podmínkách (koncentrace všech iontů tvořících komplexy s iontem uranulu,  $\text{pH}$ , redoxní potenciál, iontová síla, aj.)<sup>7,9,10,14</sup>. Z těchto komplexů pak mohou vznikat minerály, např. při odpařování vody ve vyprahlých oblastech se mění  $\text{pH}$  a v závislosti na alkalitě či aciditě prostředí vznikají různé minerály<sup>14</sup>; dále může dojít ke změně redoxního potenciálu  $E^0$  a uranyl(II) je redukován na čtyřmocný uran<sup>7,10</sup>. Tyto procesy pak ovlivňují celkovou mobilitu uranu v přírodě.

Hydrogenuhličitany vznikají ve vodách při chemickém zvětrávání hlinitokřemičitanů působením  $\text{CO}_2$  a  $\text{H}_2\text{O}$  a reakcí mezi uhličitany a minerály (např. kalcitem) a  $\text{CO}_2$  (cit.<sup>16</sup>). Kyselina šťavelová se vyskytuje v podzemních a dešťových vodách, v půdách, kde vzniká jako produkt mikroorganismů<sup>17</sup> a při skladování jaderného odpadu rozkladem organických sloučenin<sup>5,17</sup>.

Umělé neuronové sítě (Artificial Neural Network, ANN) umožňují předpovídat vlastnosti bez znalosti funkčních vztahů (modelů) založených na chemické, termodynamické nebo matematické podstatě vyhodnocovaných dat nebo probíhajících dějů<sup>18-22</sup> (tzv. „soft modelování“). ANN spolu s ostatními matematickými a chemometrickými metodami představují jednu z variant vyhodnocení výsledků analytických měření. V současné době se ANN používají v některých oblastech analytické chemie, např. pro kalibraci iontově selektivních elektrod<sup>23,24</sup>, vyhodnocování rovnovážných<sup>24</sup> nebo rychlostních<sup>25,26</sup> konstant z experimentálních dat, optimalizace analytických metod<sup>27,28</sup>.

Hlavním cílem předkládané práce bylo najít spektrofotometrickou metodu pro stanovení uranu(VI) v složitých maticích (šťavelany<sup>5,29,30</sup> či uhličitany<sup>5,7,9-14</sup>, se kterými uran(VI) tvoří stabilní komplexy) a metodu pro současné stanovení uranu(VI) a aniontu v systému uran(VI)-anion (uhličitany, šťavelany). Při znalosti koncentrace uranu(VI) lze použít tuto metodu pro nepřímé stanovení výše uvedených aniontů, např. stanovení hydrogenuhličitany ve vzorcích

minerálních vod nebo pro stanovení obsahu uranu(VI) a uhličitánů v modelových vzorcích kontaminovaných vod. Uran(VI) v těchto vodách je přítomen ve formě různě rozpustných species (volný ion uranylu(II) a jeho komplexy zejména  $[\text{UO}_2(\text{CO}_3)_n]^{2-2n}$  nebo  $[\text{UO}_2(\text{SO}_4)_n]^{2-2n}$ ,  $n = 1-3$ ), které ovlivňují jejich výslednou migraci ve vodách a tím i jejich potenciální toxikologické nebezpečí pro člověka. Navržené spektrofotometrické stanovení uranu(VI) v těchto matricích může být použito i pro stanovení jiných radioaktivních prvků podobných chemických vlastností (např. neptunium(VI), plutonium(VI)).

## Experimentální část

### Chemikálie a přístroje

Pro přípravu všech roztoků byla použita voda redestilovaná v křemenné aparatuře (Heraeus, Německo). 4-(2-Pyridylazo)resorcinol (PAR), dihydrát kyseliny šťavelové, dihydrát chloridu uranylu, hydrogenuhličitan sodný, dodekahydrát fosforečnanu disodného, uhličitán sodný, kyselina dusičná (všechny čistoty p.a.) a triethanolamin (97%) byly dodány firmou Lachema (Brno). Organické činidlo Arsenazo III (p.a.) bylo zakoupeno od firmy Fluka (Buchs, Švýcarsko). Měření byla provedena při laboratorní teplotě na dvoupraskovém spektrofotometru UV2 (Pye Unicam, Velká Británie) s rozsahem vlnových délek 190 až 900 nm. pH roztoků bylo kontrolováno kombinovanou skleněnou elektrodou (Monokrystaly, Turnov) na pH metru OP-208 (Radelkis, Maďarsko) s přesností 0,01 pH.

### Příprava vzorků

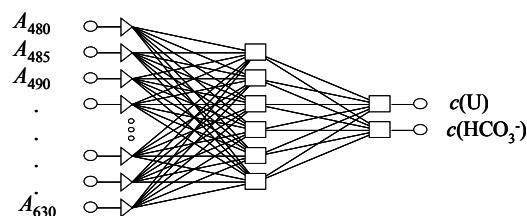
Pro přípravu všech vzorků o různých koncentracích byly použity zásobní roztoky chloridu uranylu  $\text{UO}_2\text{Cl}_2$  ( $c = 0,18909 \text{ mol l}^{-1}$ ), který byl standardizován podle postupu<sup>8,15</sup>, a zásobní roztoky organických činidel PAR (0,20%) a Arsenazo III (0,25%). Pro stanovení uranu(VI) organickým činidlem PAR byl postup popsán v literatuře<sup>35</sup> modifikován tak, aby se zvýšila citlivost spektrofotometrického stanovení tvorbou jediného barevného produktu<sup>33-35</sup> a současným maskováním interferujících iontů kovů triethanolaminovým pufrem (pH 8,0). Do 50 ml odměrné baňky byl odpipetován alikvotní podíl zásobního roztoku uranu(VI) tak, aby jeho maximální koncentrace v roztoku byla  $6 \text{ mg l}^{-1}$ , pak bylo přidáno 2 ml 0,20% vodného roztoku činidla PAR, 5 ml triethanolaminového pufru ( $1 \text{ mol l}^{-1}$ ) a event. i alikvotní přídavek hydrogenuhličitanu, resp. šťavelanu v případě jejich stanovení. Pořadí je nutné dodržet, aby navržená metoda poskytovala reprodukovatelné výsledky. Absorbance byla měřena při 530 nm vzhledem k slepému roztoku, kterým je roztok PAR (cit.<sup>35</sup>). Stanovení uhličitánů v minerálních vodách bylo prováděno se zředěným vzorkem pro tři různé koncentrace uranu(VI) tak, aby byl využit celý pracovní rozsah kalibrační křivky. Z nalezených hodnot byla vypočtena průměrná hodnota a odhad směrodatné odchylky, které

pak sloužily pro testování výsledků na systematickou chybu.

Pro stanovení uranu(VI) organickým činidlem Arsenazo III byl převzat literární postup<sup>36</sup> optimalizovaný také pro vznik jednoho barevného komplexu s vysokou hodnotou absorpčního koeficientu<sup>37</sup>. Roztok uranu(VI) obsahující 10–75  $\mu\text{g U(VI)}$  v odměrné baňce o objemu 25 ml byl okyselen roztokem  $\text{HNO}_3$  tak, aby její výsledná koncentrace po konečném zředění byla  $6 \text{ mol l}^{-1}$ , pak byly přidány 3 ml činidla (0,25% roztok Arsenazo III) a po doplnění destilovanou vodou po značku byla měřena absorbance při 665 nm. Roztoky byly vždy připravovány čerstvé, aby byla zajištěna reprodukovatelnost měření.

### Vyhodnocení výsledků

Naměřená spektrální data byla exportována do programu Excel<sup>TM</sup>, po jejich následném zpracování byla vyhodnocena programem Trajan<sup>TM</sup> (StatSoft, Velká Británie) s použitím ANN. Jako vstupní hodnoty sítě byly použity hodnoty absorbancí v rozsahu vlnových délek 480–630 nm po 5 nm (celkem 31 vstupních neuronů) pro všechna stanovení a jako výstupní hodnoty (2 neurony) byly koncentrace uranu(VI) a koncentrace hydrogenuhličitanu nebo šťavelanu ( $c(\text{U})$ ,  $c(\text{HCO}_3^-)$  resp.  $c(\text{C}_2\text{O}_4^{2-})$  – viz obr. 1) nebo jako výstupní hodnota (1 neuron) pro koncentraci hydrogenuhličitanu nebo šťavelanu ( $c(\text{HCO}_3^-)$  resp.  $c(\text{C}_2\text{O}_4^{2-})$ ). Optimální architektura ANN (počet skrytých neuronů) byla hledána programem Trajan<sup>TM</sup> pro systém uran(VI)-PAR-šťavelan: 34 roztoků (trénovací soubor), 15 roztoků (ověřovací-verifikační soubor), aktivační funkce lineární, počet učicích epoch 50 000, rychlost učení 0,7, „momentum“ 0,2, kdežto pro systém uran(VI)-PAR-hydrogenuhličitan byly použity jiné parametry: 40 roztoků (trénovací soubor), 20 roztoků (ověřovací-verifikační soubor), aktivační funkce lineární, počet učicích epoch 50 000, rychlost učení 0,6, „momentum“ 0,3 (stanovení koncentrace hydrogenuhličitanu), počet učicích epoch 100 000, rychlost učení 0,6, „momentum“ 0,1 (simultánní stanovení koncentrace uranu(VI) a hydrogenuhličitanu). Optimální architektura ANN pak byla použita pro předpověď koncentrací uranu(VI) a hydrogenuhličitanu nebo



Obr. 1. Příklad optimální architektury (113:6:2) umělé neuronové sítě (ANN) použité v práci

šťavelanu v neznámém vzorku z naměřených hodnot absorbancí (spekter).

Stanovení počtu species absorbujících světlo v roztoku bylo provedeno analýzou hlavních komponent<sup>8,9,30,31</sup> s použitím programu FA608 (cit.<sup>31</sup>) a OPIUM (cit.<sup>32</sup>). Byla analyzována spektra v rozsahu vlnových délek 500–600 nm (interval 5 nm) pro 3 koncentrace uranu (VI) (1, 3 a 6 mg l<sup>-1</sup>) a koncentrace hydrogenuhličitanu nebo šťavelanu 0–0,1 mol l<sup>-1</sup>.

## Výsledky a diskuse

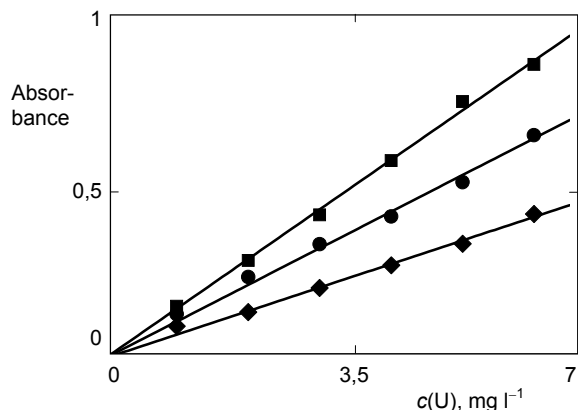
### Hledání vhodného detekčního systému

Spektrofotometrické stanovení uranu(VI) se nejčastěji provádí s použitím organických činidel PAR<sup>35</sup> a Arsenazo III (cit.<sup>36</sup>). Při nadbytku činidla PAR vzhledem k uranu(VI) se tvoří komplexy ML při pH < 8,5: UO<sub>2</sub>HL (pH > 3) a UO<sub>2</sub>L (pH > 5,5) rozpustné ve vodě<sup>35</sup>. O existenci komplexu ML<sub>2</sub> jsou v literatuře rozporuplné informace<sup>33–35</sup>. Také podle posledních výsledků studia rovnováh uranu(VI) s Arsenazo III byla potvrzena existence různě protonizovaných komplexů a hydroxokomplexů ML (cit.<sup>36,37</sup>), za jistých podmínek i komplexů ML<sub>2</sub> (cit.<sup>36</sup>).

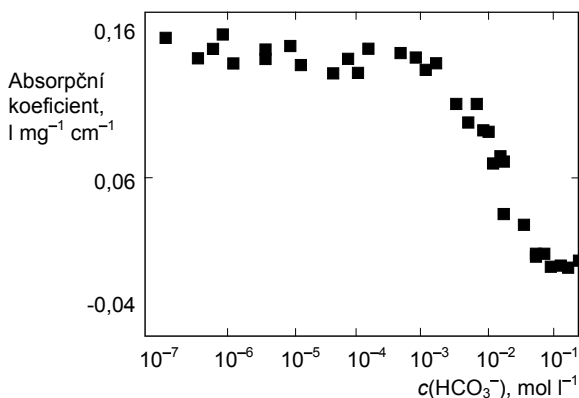
Byly proměřeny kalibrační křivky pro stanovení uranu(VI) oběma organickými činidly za optimálních experimentálních podmínek, jak je uvedeno v Experimentální části. Při stanovení uranu(VI) s činidlem PAR v koncentračním rozmezí 1–10 mg l<sup>-1</sup> U(VI), tj. (0,42–4,20)·10<sup>-5</sup> mol l<sup>-1</sup> (23 bodů), byly získány následující analytické parametry: citlivost 42100 ± 500 l mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>, mez detekce 1,37·10<sup>-6</sup> mol l<sup>-1</sup>, kdežto pro stanovení pomocí Arsenazo III v koncentračním rozmezí 1–3 mg l<sup>-1</sup> U(VI), tj. (0,21 až 1,26)·10<sup>-5</sup> mol l<sup>-1</sup> (9 bodů), je citlivost 17 100 ± 1200 l mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> a mez detekce 2,24·10<sup>-6</sup> mol l<sup>-1</sup>. Pro PAR byla získána kvalitativní shoda s literárními hodnotami 37 600 až 39 500 l mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> (cit.<sup>33–35</sup>), kdežto pro Arsenazo III literární hodnota 60 000 l mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> výrazně nesouhlasí s hodnotou naměřenou, což lze vysvětlit sníženou chromatografickou čistotou použitého činidla<sup>36</sup>. Navíc i analytické parametry spektrofotometrického stanovení pro Arsenazo III jsou horší než pro PAR. Testovala se též časová stabilita systému uranu(VI) s použitým činidlem PAR ve vodném roztoku po dobu 5 dní. Ta byla lepší pro systém uranu(VI)-PAR, proto se v další práci pokračovalo s tímto systémem.

### Nepřímé stanovení aniontů

Při stanovení uranu(VI) v přítomnosti aniontů, které s ním tvoří stabilní komplexy (fosforečnan, uhličitán, šťavelan), bylo pozorováno, že směrnice kalibrační přímky výrazně závisí na přítomnosti hydrogenuhličitanu (viz obr. 2) nebo šťavelanu, které při pH 8,0 v roztoku převládají. Jak je patrné z obr. 3, citlivost se prakticky nemění v koncentračním rozmezí 10<sup>-7</sup>–10<sup>-4</sup> mol l<sup>-1</sup> v důsledku tvorby ternárního komplexu, kdežto v rozmezí 10<sup>-4</sup>–10<sup>-1</sup> mol l<sup>-1</sup> se ternární komplex uranu(VI)-PAR-(hydrogen)uhličitán rozkládá a vzniká stabilnější komplex [UO<sub>2</sub>(CO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>]<sup>4-</sup>

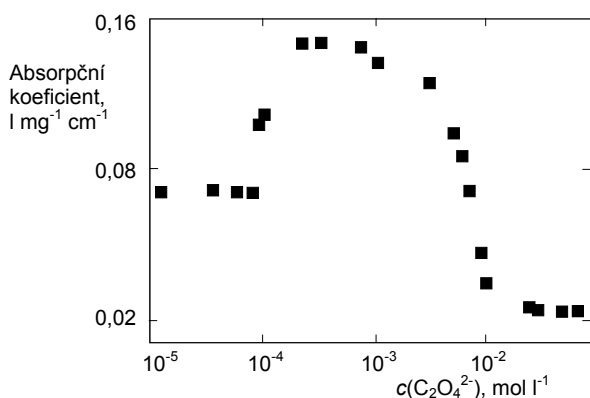


Obr. 2. Kalibrační závislosti pro spektrofotometrické stanovení uranu(VI) s použitím PAR v přítomnosti hydrogenuhličitanu o různé koncentraci: 1·10<sup>-4</sup> mol l<sup>-1</sup> (■), 2·10<sup>-3</sup> mol l<sup>-1</sup> (●), 1·10<sup>-2</sup> mol l<sup>-1</sup> (◆)



Obr. 3. Závislost hmotnostního absorpčního koeficientu uranu (VI) jako funkce koncentrace hydrogenuhličitanu pro systém uranyl-PAR-hydrogenuhličitán

(log β<sub>3</sub> (I = 0 mol l<sup>-1</sup>) = 21,6, cit.<sup>7,11</sup>), což je doprovázeno výraznou spektrální změnou (obr. 3). Analogická situace nastává i u šťavelanu (log β<sub>3</sub> pro [UO<sub>2</sub>(C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>)<sub>3</sub>]<sup>4-</sup> při I = 0 mol l<sup>-1</sup> je 14,0<sup>30</sup>, obr. 4), pouze se liší koncentračním rozsahem. V rozmezí 10<sup>-5</sup>–10<sup>-4</sup> mol l<sup>-1</sup> existuje binární komplex uranu(VI)-PAR, který přechází na ternární komplex uranu(VI)-PAR-šťavelan (10<sup>-4</sup>–10<sup>-3</sup> mol l<sup>-1</sup>) a ten se pak rozkládá za vzniku stabilnějšího komplexu [UO<sub>2</sub>(C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>)<sub>3</sub>]<sup>4-</sup> pro vyšší koncentrace šťavelanu (10<sup>-3</sup>–10<sup>-2</sup> mol l<sup>-1</sup>). Je zajímavé, že tento efekt nebyl pozorován pro hydrogenfosforečnan, kde směrnice kalibrační křivky je prakticky konstantní v rámci chyby měření v celém koncentračním roz-



Obr. 4. Závislost hmotnostního absorpčního koeficientu uranu (VI) jako funkce koncentrace šťavelanu pro systém uranyl-PAR-šťavelan

Tabulka I

Ukázka výsledků vypočtených ANN

Obsah $c(\text{U})$ [mol l <sup>-1</sup> ]		Rel. chyba [%]	Obsah $c(\text{HCO}_3^-)$ [mol l <sup>-1</sup> ]		Rel. chyba [%]	Obsah $c(\text{HCO}_3^-)$ [mol l <sup>-1</sup> ]		Rel. chyba [%]
dáno	vypočteno		dáno	vypočteno		dáno	vypočteno	
<i>Simultánní stanovení koncentrace uranu(VI) a hydrogenuhličitanu<sup>a</sup></i>						<i>Stanovení koncentrace hydrogenuhličitanu<sup>b</sup></i>		
4,20 · 10 <sup>-6</sup>	4,24 · 10 <sup>-6</sup>	0,95	4,00 · 10 <sup>-3</sup>	4,01 · 10 <sup>-3</sup>	0,25	2,00 · 10 <sup>-3</sup>	2,03 · 10 <sup>-3</sup>	1,30
1,26 · 10 <sup>-5</sup>	1,29 · 10 <sup>-5</sup>	2,38	4,00 · 10 <sup>-3</sup>	4,14 · 10 <sup>-3</sup>	3,50	2,00 · 10 <sup>-3</sup>	2,04 · 10 <sup>-3</sup>	2,02
2,52 · 10 <sup>-5</sup>	2,52 · 10 <sup>-5</sup>	-0,02	4,00 · 10 <sup>-3</sup>	4,14 · 10 <sup>-3</sup>	3,50	2,00 · 10 <sup>-3</sup>	2,02 · 10 <sup>-3</sup>	1,01
4,20 · 10 <sup>-6</sup>	4,29 · 10 <sup>-6</sup>	2,14	9,00 · 10 <sup>-3</sup>	9,13 · 10 <sup>-3</sup>	1,44	6,00 · 10 <sup>-3</sup>	6,04 · 10 <sup>-3</sup>	0,68
1,26 · 10 <sup>-5</sup>	1,28 · 10 <sup>-5</sup>	1,59	9,00 · 10 <sup>-3</sup>	8,97 · 10 <sup>-3</sup>	-0,33	6,00 · 10 <sup>-3</sup>	6,04 · 10 <sup>-3</sup>	0,72
2,52 · 10 <sup>-5</sup>	2,52 · 10 <sup>-5</sup>	0,03	9,00 · 10 <sup>-3</sup>	8,77 · 10 <sup>-3</sup>	-2,56	6,00 · 10 <sup>-3</sup>	6,05 · 10 <sup>-3</sup>	0,81
4,20 · 10 <sup>-6</sup>	4,24 · 10 <sup>-6</sup>	0,95	3,00 · 10 <sup>-2</sup>	3,10 · 10 <sup>-2</sup>	3,33	1,00 · 10 <sup>-2</sup>	1,02 · 10 <sup>-2</sup>	0,21
1,26 · 10 <sup>-5</sup>	1,29 · 10 <sup>-5</sup>	2,38	3,00 · 10 <sup>-2</sup>	3,12 · 10 <sup>-2</sup>	4,00	1,00 · 10 <sup>-2</sup>	1,01 · 10 <sup>-2</sup>	0,12
2,52 · 10 <sup>-5</sup>	2,48 · 10 <sup>-5</sup>	-1,58	3,00 · 10 <sup>-2</sup>	3,06 · 10 <sup>-2</sup>	2,00	1,00 · 10 <sup>-2</sup>	1,01 · 10 <sup>-2</sup>	0,11
4,20 · 10 <sup>-6</sup>	4,22 · 10 <sup>-6</sup>	0,48	7,00 · 10 <sup>-2</sup>	7,33 · 10 <sup>-2</sup>	4,71			
1,26 · 10 <sup>-5</sup>	1,28 · 10 <sup>-5</sup>	1,59	7,00 · 10 <sup>-2</sup>	7,32 · 10 <sup>-2</sup>	4,57			
2,52 · 10 <sup>-5</sup>	2,49 · 10 <sup>-5</sup>	-1,19	7,00 · 10 <sup>-2</sup>	7,13 · 10 <sup>-2</sup>	1,86			

<sup>a</sup> Optimální architektura ANN pro výpočet je 31:6:2, <sup>b</sup> optimální architektura ANN pro výpočet je 31:4:1

v celém rozsahu koncentrací uranu(VI) pro různé koncentrace hydrogenuhličitanu, resp. šťavelanu (obr. 2, komplexy o poměru M:L = 1:1). Navíc byla tvorba ternárních komplexů také pozorována pro systém uran(VI)-PAR-huminová kyselina<sup>15</sup>.

Naměřená spektra po rozdělení do tréninkové a ověřovací množiny pak byla použita pro optimalizaci architektury ANN (stanovení počtu neuronů ve skryté vrstvě). ANN o optimální architektuře pak sloužila k výpočtu koncentrace hydrogenuhličitanů v modelových směsích

sahu 10<sup>-7</sup>–10<sup>-1</sup> mol l<sup>-1</sup>.

Pro objasnění procesu, který probíhá v roztoku po přidání hydrogenuhličitanu, resp. šťavelanu, byla použita metoda analýzy hlavních komponent (PCA) pro naměřená absorpční spektra roztoků. Pro systém uran(VI)-PAR výsledky analýzy ukazují na přítomnost dvou species absorbujících světlo v roztoku, kdežto v systému uran(VI)-PAR-hydrogenuhličitan, resp. uran(VI)-PAR-šťavelan se zvýšil počet species absorbujících světlo na tři. Jestliže pro systém uran(VI)-PAR za daných experimentálních podmínek uvažujeme komplex ML a organické činidlo HL (je v nadbytku vzhledem k uranu(VI)) jako species absorbující světlo, pak v přítomnosti hydrogenuhličitanu, resp. šťavelanu vzniká ternární komplex pravděpodobné stechiometrie MLX nebo MLX<sub>2</sub> jako další species absorbující světlo za předpokladu, že [UO<sub>2</sub>(CO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>]<sup>4-</sup> a [UO<sub>2</sub>(C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>)<sub>3</sub>]<sup>4-</sup> species neabsorbují v daném rozsahu vlnových délek, což je ve shodě s pozorováním jiných autorů<sup>9,12,13,30</sup>. To je podpořeno také faktem, že kalibrační přímky jsou lineární

(tabulka I), kdy relativní chyba stanovení nepřesáhla 2 %. Jestliže jsou také koncentrace uranu(VI) vedle koncentrace hydrogenuhličitanu použity jako výstupní hodnoty vypočtené ANN, pak lze současně stanovit obě koncentrace s relativní chybou nepřevyšující hodnotu 5 % (tabulka I). To bylo ověřeno i analýzou reálných vzorků minerálních vod, které byly dopovány známým množstvím zásobního roztoku uranu(VI) (rozmezí (0,42–2,52) · 10<sup>-5</sup> mol l<sup>-1</sup>). Výsledky pro simultánní stanovení obou analytů taktéž nepřekročily relativní chybu 5 %. Výsledky stanovení



Tabulka II

Souhrnné výsledky stanovení obsahu hydrogenuhličitanu v minerálních vodách. Složení minerálních vod je uvedeno pod tabulkou

Minerální voda	Obsah $c(\text{HCO}_3^-)$ [ $\text{mol l}^{-1}$ ]		Relativní směrodatná odchylka [%]	Studentův $t$ -test
	deklarovaný obsah	nalezený obsah <sup>a,b</sup>		
Magnesia <sup>1</sup>	$2,30 \cdot 10^{-2}$	$(2,38 \pm 0,09) \cdot 10^{-2}$	3,78	1,53
Korunní <sup>2</sup>	$9,60 \cdot 10^{-3}$	$(9,3 \pm 0,2) \cdot 10^{-3}$	2,15	2,59
Rudolfův pramen <sup>3</sup>	$2,60 \cdot 10^{-2}$	$(2,67 \pm 0,07) \cdot 10^{-2}$	2,62	1,73
Excelsior <sup>4</sup>	$1,63 \cdot 10^{-3}$	$(1,64 \pm 0,08) \cdot 10^{-3}$	4,88	0,22
Bílinská kyselka <sup>5</sup>	$7,33 \cdot 10^{-2}$	$(7,34 \pm 0,32) \cdot 10^{-2}$	4,36	0,05
Vincentka <sup>6</sup>	$7,91 \cdot 10^{-2}$	$(8,27 \pm 0,18) \cdot 10^{-2}$	2,18	3,46
Ondrášovka <sup>7</sup>	$1,16 \cdot 10^{-2}$	$1,17 \cdot 10^{-2}$	neurčeno	neurčeno <sup>c</sup>
Hanácká kyselka <sup>8</sup>	$2,70 \cdot 10^{-2}$	$(2,75 \pm 0,03) \cdot 10^{-2}$	1,09	2,89
Šaratice <sup>9</sup>	$9,18 \cdot 10^{-3}$	$(9,12 \pm 0,03) \cdot 10^{-3}$	0,33	3,46
Zaječická hořká <sup>10</sup>	$1,41 \cdot 10^{-2}$	$(1,50 \pm 0,06) \cdot 10^{-2}$	4,00	2,60

<sup>a</sup> Analýzy prováděny v měsících duben–květen 2003, <sup>b</sup> optimální architektura ANN použitá pro výpočet 31:6:2, <sup>c</sup> Studentův  $t$ -test nebylo možné provést, protože hodnota směrodatné odchylky byla rovna nule

Složení minerálních vod (v  $\text{mg l}^{-1}$ ):

- analýza 2004:  $\text{Na}^+$  6,8;  $\text{Mg}^{2+}$  200;  $\text{Ca}^{2+}$  38,6;  $\text{Cl}^-$  18,2;  $\text{SO}_4^{2-}$  245;  $\text{HCO}_3^-$  1020 (celková mineralizace 1375)
- $\text{Na}^+$  97,56;  $\text{K}^+$  24,30;  $\text{Mg}^{2+}$  29,72;  $\text{Ca}^{2+}$  78,55;  $\text{Mn}^{2+}$  0,61;  $\text{Fe}^{2+}$  0,02;  $\text{F}^-$  0,87;  $\text{Cl}^-$  14,05;  $\text{SO}_4^{2-}$  66,54;  $\text{HCO}_3^-$  583,4;  $\text{H}_2\text{SiO}_3$  55,60
- $\text{Na}^+$  84,17;  $\text{K}^+$  11,13;  $\text{Mg}^{2+}$  136,2;  $\text{Ca}^{2+}$  276,7;  $\text{Sr}^{2+}$  0,497;  $\text{Fe}^{2+}$  12,32;  $\text{Mn}^{2+}$  0,548;  $\text{F}^-$  0,103;  $\text{Cl}^-$  45,32;  $\text{I}^-$  0,006;  $\text{SO}_4^{2-}$  122,7;  $\text{HCO}_3^-$  1581;  $\text{H}_2\text{SiO}_3$  117,8 (celková mineralizace 2392)
- $\text{Na}^+$  22,16;  $\text{K}^+$  2,827;  $\text{Mg}^{2+}$  15,64;  $\text{Ca}^{2+}$  25,49;  $\text{Mn}^{2+}$  1,364;  $\text{F}^-$  0,115;  $\text{Cl}^-$  36,8;  $\text{SO}_4^{2-}$  49,72;  $\text{HCO}_3^-$  99,42;  $\text{H}_2\text{SiO}_3$  34,5 (celková mineralizace 289,849)
- $\text{Li}^+$  3,67;  $\text{Na}^+$  1743,00;  $\text{K}^+$  90,76;  $\text{Mg}^{2+}$  45,14;  $\text{Ca}^{2+}$  133,80;  $\text{F}^-$  4,48;  $\text{Cl}^-$  230,10;  $\text{SO}_4^{2-}$  574,00;  $\text{HCO}_3^-$  4471,00; volný  $\text{CO}_2$  2067,0
- $\text{Li}^+$  9,81;  $\text{Na}^+$  2440,00;  $\text{K}^+$  133,50;  $\text{Mg}^{2+}$  15,28;  $\text{Ca}^{2+}$  239,20;  $\text{Sr}^{2+}$  4,23;  $\text{Ba}^{2+}$  8,68;  $\text{Rb}^+$  0,59;  $\text{Cs}^+$  0,16;  $\text{Fe}^{2+}$  3,81;  $\text{Mn}^{2+}$  0,55;  $\text{NH}_4^+$  10,57;  $\text{F}^-$  2,54;  $\text{Cl}^-$  1617,00;  $\text{Br}^-$  7,03;  $\text{I}^-$  6,77;  $\text{SO}_4^{2-}$  8,43;  $\text{HCO}_3^-$  4825,00;  $\text{HBO}_2$  318,50;  $\text{H}_2\text{SiO}_3$  15,56; volný  $\text{CO}_2$  3030,00 (celková mineralizace 963,4) –  $\text{UO}_2^{2+}$  3,2  $\text{mg l}^{-1}$ , tj.  $1,18 \cdot 10^{-8}$   $\text{mol l}^{-1}$
- analýza 2003:  $\text{Na}^+$  29,60;  $\text{K}^+$  1,582;  $\text{Mg}^{2+}$  19,56;  $\text{Ca}^{2+}$  184,0;  $\text{F}^-$  1,17;  $\text{Cl}^-$  5,46;  $\text{SO}_4^{2-}$  15,38;  $\text{HCO}_3^-$  706,2;  $\text{NO}_3^-$  0,41; volný  $\text{CO}_2$  3973
- analýza 2004:  $\text{Na}^+$  30,95;  $\text{K}^+$  1,402;  $\text{Mg}^{2+}$  19,38;  $\text{Ca}^{2+}$  190,4;  $\text{F}^-$  1,76;  $\text{Cl}^-$  5,11;  $\text{SO}_4^{2-}$  10,28;  $\text{HCO}_3^-$  772,9;  $\text{NO}_3^-$  nedetegován;  $\text{UO}_2^{2+}$  1,6  $\text{mg l}^{-1}$ , tj.  $5,92 \cdot 10^{-9}$   $\text{mol l}^{-1}$
- zdroj Horní Moštěnice:  $\text{Na}^+$  277,8;  $\text{K}^+$  16,67;  $\text{Mg}^{2+}$  71,4;  $\text{Ca}^{2+}$  270;  $\text{Fe}^{2+}$  3,87;  $\text{F}^-$  1,91;  $\text{Cl}^-$  185,4;  $\text{I}^-$  0,211;  $\text{SO}_4^{2-}$  0,25;  $\text{HCO}_3^-$  1645; volný  $\text{CO}_2$  1435
- $\text{Na}^+$  2060;  $\text{K}^+$  26,94;  $\text{Mg}^{2+}$  1036;  $\text{Ca}^{2+}$  200,1;  $\text{F}^-$  0,033;  $\text{Cl}^-$  77,7;  $\text{SO}_4^{2-}$  8365;  $\text{HCO}_3^-$  559,9;  $\text{NO}_3^-$  4,20;  $\text{UO}_2^{2+}$  0,214  $\text{mg l}^{-1}$ , tj.  $0,8 \cdot 10^{-6}$   $\text{mol l}^{-1}$  (chem. analýza),  $\text{UO}_2^{2+}$  0,189  $\text{mg l}^{-1}$ , tj.  $0,7 \cdot 10^{-6}$   $\text{mol l}^{-1}$  (radiační analýza)
- $\text{Na}^+$  1755,00;  $\text{K}^+$  696,20;  $\text{Mg}^{2+}$  5033,00;  $\text{Ca}^{2+}$  301,00;  $\text{Zn}^{2+}$  0,2326;  $\text{F}^-$  2,25;  $\text{Cl}^-$  405,20;  $\text{I}^-$  0,39;  $\text{SO}_4^{2-}$  22540;  $\text{HCO}_3^-$  859,80

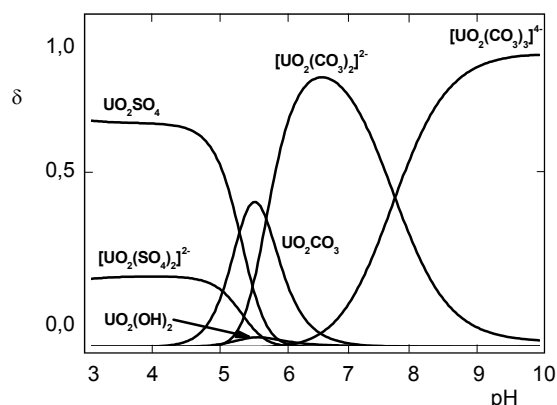
koncentrace hydrogenuhličitanu (tabulka II) byly testovány statisticky Studentovým  $t$ -testem na systematickou chybu (kritická hodnota pro 95% interval spolehlivosti a dva stupně volnosti je 4,303, cit. <sup>38</sup>). Jak je z výsledků patrné, nebyla systematická chyba prokázána pro žádné stanovení ani v případě vzorků silně minerálních vod (Šaratice a Zaječická hořká), ačkoliv v nich přítomné hořečnaté ionty tvoří stabilní karbonáto-komplexy  $[\text{MgHCO}_3]^+$  a  $\text{MgCO}_3$ , jejichž zastoupení může být poměrně značné<sup>16</sup>. V některých případech se v přírodních minerálních vodách nachází uran(VI) ve formě uranylu(II) (Vincentka, Ondrášovka), avšak výrazně pod mezí detekce navržené me-

tody, což je ve shodě s výsledky stanovení pro jiné vzorky pitných vod v Olomouckém kraji<sup>39</sup>. Pouze v případě Šaratice je koncentrace uranu(VI) (0,214  $\text{mg l}^{-1}$  resp. 0,189  $\text{mg l}^{-1}$  podle výsledků analýzy) vyšší, což patrně koreluje s vyšším obsahem síranů (obr. 5). Speciační diagram pro tento vzorek o daném chemickém složení ukazuje, že dominantní formou uranu(VI) je komplex  $[\text{UO}_2(\text{CO}_3)_2]^{2-}$ .

Analogický postup stanovení pomocí ANN byl využit i v případě simultánní analýzy uranu(VI) a šťavelanu (tabulka III), kdy relativní chyba stanovení stejně jako u hydrogenuhličitanu nepřekročila hodnotu 5 %.

## Závěr

Bylo vybráno vhodné chromogenní činidlo (PAR) pro stanovení uranu(VI) v složitých maticích (hydrogenuhlíčan, šťavelan, fosforečnan). Pro hydrogenuhlíčan a šťavelan jako významné interferenty bylo prokázáno, že



Obr. 5. Speciační diagram uranu(VI) jako funkce pH pro vzorek minerální vody Šaratica (pH 6,98); analytické koncentrace majoritních iontů jsou uvedeny v tabulce II a pro výpočet byly vzaty následující hodnoty (v mmol l<sup>-1</sup>): UO<sub>2</sub><sup>2+</sup> 0,8·10<sup>-3</sup>; Ca<sup>2+</sup> 5,00; Mg<sup>2+</sup> 42,60; K<sup>+</sup> 0,69; Na<sup>+</sup> 89,60; HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 9,20; SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 87,10; Cl<sup>-</sup> 2,20. Výpočet byl proveden s konstantami stability pro jednotlivé species pro I = 0 mol l<sup>-1</sup> převzaté z literatury<sup>7</sup>

## Tabulka III

Ukázka výsledků vypočtených ANN

Obsah c(U) [mol l <sup>-1</sup> ]		Rel. chyba [%]	Obsah c(C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ) [mol l <sup>-1</sup> ]		Rel. chyba [%]
dáno	vypočteno		dáno	vypočteno	
<i>Simultánní stanovení koncentrace uranu(VI) a šťavelanu (testovací množina)<sup>a</sup></i>					
4,20·10 <sup>-6</sup>	4,20·10 <sup>-6</sup>	0,02	3,00·10 <sup>-3</sup>	3,01·10 <sup>-3</sup>	0,33
1,26·10 <sup>-5</sup>	1,30·10 <sup>-5</sup>	3,17	3,00·10 <sup>-3</sup>	2,99·10 <sup>-3</sup>	-0,33
2,52·10 <sup>-5</sup>	2,52·10 <sup>-5</sup>	0,06	3,00·10 <sup>-3</sup>	3,01·10 <sup>-3</sup>	0,33
4,20·10 <sup>-6</sup>	4,20·10 <sup>-6</sup>	-0,05	9,00·10 <sup>-3</sup>	8,91·10 <sup>-3</sup>	-1,00
1,26·10 <sup>-5</sup>	1,32·10 <sup>-5</sup>	4,76	9,00·10 <sup>-3</sup>	9,20·10 <sup>-3</sup>	2,22
2,52·10 <sup>-5</sup>	2,52·10 <sup>-5</sup>	0,08	9,00·10 <sup>-3</sup>	9,12·10 <sup>-3</sup>	1,33
<i>Simultánní stanovení koncentrace uranu(VI) a šťavelanu (modelový vzorek)<sup>a</sup></i>					
4,20·10 <sup>-6</sup>	4,19·10 <sup>-6</sup>	-0,14	6,40·10 <sup>-3</sup>	6,50·10 <sup>-3</sup>	1,56
1,26·10 <sup>-5</sup>	1,28·10 <sup>-5</sup>	1,73	6,40·10 <sup>-3</sup>	6,30·10 <sup>-3</sup>	-1,56
2,52·10 <sup>-5</sup>	2,53·10 <sup>-5</sup>	0,23	6,40·10 <sup>-3</sup>	6,30·10 <sup>-3</sup>	-1,56
4,20·10 <sup>-6</sup>	4,24·10 <sup>-6</sup>	0,98	1,80·10 <sup>-2</sup>	1,80·10 <sup>-2</sup>	0,02
1,26·10 <sup>-5</sup>	1,28·10 <sup>-5</sup>	1,62	1,80·10 <sup>-2</sup>	1,74·10 <sup>-2</sup>	-3,33
2,52·10 <sup>-5</sup>	2,52·10 <sup>-5</sup>	0,01	1,80·10 <sup>-2</sup>	1,80·10 <sup>-2</sup>	0,03

<sup>a</sup>Optimální architektura ANN použitá pro výpočet je (31:5:2)

s nimi tvoří ternární komplex, který se v jejich nadbytku rozkládá a vzniká stabilnější binární komplex [UO<sub>2</sub>L<sub>3</sub>]<sup>4-</sup>. Těto substituční reakce s následným vyhodnocením experimentálních dat za použití umělých neuronových sítí bylo použito k nepřímému stanovení těchto aniontů, resp. k současnému stanovení uranu(VI) a hydrogenuhlíčitanu či šťavelanu ve směsích. Toto stanovení má velký význam pro speciální analýzu uranu(VI) v různých vzorcích vod, zejména minerálních. Metoda byla chemometricky testována na přesnost (relativní směrodatná odchylka < 5 %) a správnost dosažených výsledků analýzou reálných vzorků minerálních vod.

*Autoři by rádi poděkovali prof. RNDr. Lumíru Sommerovi, DrSc. za konzultace spojené s touto prací. Tato práce byla podporována grantem GA ČR (grant 203/02/1103).*

## LITERATURA

- Greenwood N. N., Earnshaw A.: *Chemie prvků*. Informatorium, Praha 1993.
- Březina F., Pastorek R.: *Koordinační chemie*. Univerzita Palackého, Olomouc 1991.
- Meinrath G., Volke P., Helling C., Dudel E. G., Merkel B.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 364, 191 (1999).
- Hurst S., Schneider P., Meinrath G.: *Mine Water Environ.* 21, 3 (2002).
- Monpean F. (ed.): *The Use of Thermodynamic Data*

- bases in Performance Assessment*. NEA OECD, Paříž 2002.
6. Havel J., Sommer L.: *Chromogenic Reactions of Uranium*. Folia, Brno 1973.
  7. Grenthe I. (ed.): *Chemical Thermodynamics of Uranium*. Elsevier Amsterdam 1992.
  8. Lubal P., Havel J.: Chem. Pap. 51, 213 (1997).
  9. Meinrath G.: *Speciation of Uranium(VI) by Advanced Spectroscopic and Data Treatment Techniques*. Technische Universität Bergakademie, Freiberg 2000.
  10. Grenthe I., Puigdomenech I. (ed.): *Modelling in Aquatic Chemistry*. OECD NEA, Paříž 1997.
  11. Clark D. L., Hobart D. E., Neu M. P.: Chem. Rev. 95, 25 (1995).
  12. Meinrath G.: J. Radioanal. Nucl. Chem. 211, 349 (1996).
  13. Meinrath G., Klenze R., Kim J. I.: Radiochim. Acta 74, 81 (1996).
  14. Chernayev I. I.: *Kompleksnye soedineniya urana*. Nauka, Moskva 1964.
  15. Lubal P., Fetsch D., Široký D., Lubalová M., Šenkýř J., Havel J.: Talanta 51, 977 (2000).
  16. Pitter P.: *Hydrochemie*, str. 102–112. Vydavatelství VŠCHT, Praha 1999.
  17. Prapaipong P., Shock E. L., Koretsky C. M.: Geochim. Cosmochim. Acta 63, 2547 (1999).
  18. Kvasnička V., Beňušová L., Pospíchal J., Farka I., Tiňo P., Král A.: *Úvod do teórie neuronových sietí*. Iris, Bratislava 1997.
  19. Zupan J., Gasteiger J.: Anal. Chim. Acta 248, 1 (1991).
  20. Gasteiger J., Zupan J.: Angew. Chem., Int. Engl. Ed. 32, 503 (1993).
  21. Zupan J., Gasteiger J.: *Neural Networks in Chemistry and Drug Design*. Wiley-VCH, New York 1999.
  22. Zezula L.: *Diplomová práce*. Masarykova univerzita, Brno 1999.
  23. Bos M., Bos A., van der Linden W. E.: Analyst 118, 323 (1993).
  24. Havel J., Lubal P., Farková M.: Polyhedron 21, 1375 (2002).
  25. Ventura S., Silva M., Perez-Bendito D., Hervas C.: Anal. Chem. 67, 1521 (1995).
  26. Ventura S., Silva M., Perez-Bendito D., Hervas C.: Anal. Chem. 67, 4458 (1995).
  27. Havel J., Peña-Mendéz E. M., Rojas-Hernández A., Doucet J.-P., Panaye A.: J. Chromatogr. 793, 117 (1998).
  28. Dohnal V.: Chem. Listy 92, 669 (1998).
  29. Havel J.: Collect. Czech. Chem. Commun. 34, 2348 (1969).
  30. Havel J., Soto-Guerrero J., Lubal P.: Polyhedron 21, 1411 (2002).
  31. Meloun M., Havel J., Högföldt E.: *Computation of Solution Equilibria*. Ellis Horwood, Chichester 1988.
  32. Kývala M., Lubal P., Lukeš I.: *9<sup>th</sup> Spanish-Italian Mediterranean Congress on Thermodynamics of Complexes SIMEC'98, Girona, Španělsko 1998*. Kniha abstraktů, str. 98. Girona 1998.
  33. Geary W. J., Nickless G., Pollard F. H.: Anal. Chim. Acta 27, 71 (1962).
  34. Florence T. M., Tartar Y.: Anal. Chem. 35, 1613 (1963).
  35. Sommer L., Ivanov V. M., Novotná H.: Talanta 14, 329 (1967).
  36. Jančář L., Jančářová I., Černocká H., Kubáň V.: Scripta Fac. Sci. Nat. Univ. Masaryk Brun. 27–28, 153 (1997–98).
  37. Hosten E., Rohwer H. E.: Anal. Chim. Acta 355, 95 (1997).
  38. Massart D. L., Vandeginste B. G. M., Deming S. N., Michotte Y., Kaufman L.: *Chemometrics: A Textbook*. Elsevier, Amsterdam 1988.
  39. Halata M., Milde D., Svozilová D.: Chem. Listy 98, 930 (2004).

**M. Germaničová and P. Lubal** (*Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science, Masaryk University, Brno*): **Spectrophotometric Determination of Uranium (VI) in the Presence of Carbonates and Oxalates and Its Application to Uranium(VI) Speciation Analysis**

A spectrophotometric determination of uranium(VI) in the presence of some ligands (hydrogencarbonate, oxalate, hydrogenphosphate) is proposed. Analyzing the spectrophotometric data by the principal component analysis, the formation of ternary complexes was proved at low concentrations of hydrogencarbonate and oxalate; however, they decompose and more stable binary complexes  $[\text{UO}_2\text{L}_3]^{4-}$  are formed in the presence of ligand excess. This substitution reaction followed by analysis of experimental data applying ANN (Artificial Neural Network) method was utilized for indirect determination of those anions and/or simultaneous analysis of uranium(VI) and hydrogencarbonate/oxalate in their mixtures. This procedure was validated by analysis of mineral waters. The proposed method is precise (rsd < 5 %) and accurate and can be applied in speciation analysis of uranium(VI) in mineral waters.

## MĚKKÉ ŽELATINOVÉ TOBOLKY OBSAHUJÍCÍ POVRCHOVĚ AKTIVNÍ LÁTKY A ETHANOL

JAN KOLČÁK<sup>a</sup>, MILOSLAVA RABIŠKOVÁ<sup>b</sup>  
a MILAN STUHLÍK<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Pliva – Lachema, Karásek 1, 621 33 Brno, <sup>b</sup> Ústav technologie léků, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Palackého 1–3, 612 42 Brno, <sup>c</sup> Ivax Pharmaceuticals s.r.o., Ostravská 29, 747 70 Opava rabiskovam@vf.u.cz

Došlo 25.10.05, přijato 2.3.06.

Klíčová slova: měkké želatinové tobolky, náplň tobolky, stěna tobolky, migrace, interakce, rozpouštědla, změkčovadla

### Úvod

Měkké želatinové tobolky jsou oblíbenou perorální lékovou formou pro příjemné estetické vlastnosti (vzhled, maskování nepříjemné chuti nebo zápachu léčiva) a dobrou biologickou dostupnost léčiv. Jsou tvořeny měkkou želatinovou stěnou a kapalnou až polotuhou náplní. Léčivo je obsaženo zpravidla v náplni jako roztok, suspenze nebo emulze. Stěny tobolek obsahují kromě želatiny definované kvality také vodu a změkčovadla (glycerol, sorbitol, propylenglykol)<sup>1</sup>. Volba změkčovadla závisí na typu a vlastnostech náplně<sup>2</sup>.

Z dalších pomocných látek se přidávají barviva, konzervancia, látky podporující rozpadavost apod. Měkké želatinové tobolky jsou dostupné v různých tvarech a velikostech, nejsou však levnou lékovou formou a jejich výroba je komplikovaná. Pro těsný kontakt stěny a náplně tobolky existuje zvýšené riziko interakcí<sup>3</sup>. Je proto možné použít pouze takové kapaliny, které nenarušují želatinové stěny tobolek. pH kapalně náplně se může pohybovat mezi hodnotami 2,5 a 7,5. Náplně kyselější povahy vedou k hydrolyze želatiny a prosakování náplně. Náplně s pH vyšším než 7,5 snižují rozpouštění stěny vytvrzením želatiny s oddálením nástupu účinku léčiva. Hydrofilní náplně stěnu rozpouštějí, nelze je proto použít<sup>4</sup>. Léčivo může migrovat z olejové náplně do stěny tobolky v závislosti na své rozpustnosti ve vodě a rozdělovacím koeficientu mezi vodou a nepochybně rozpouštědlem<sup>5</sup>.

Měkké želatinové tobolky se formují, plní a uzavírají v jednom pracovním cyklu. Výrobní proces zahrnuje přípravu želatinové hmoty pro stěnu tobolek, přípravu náplně, správné plnění a uzavírání a koncové ošetření tobolek. Tobolky se tvarují ze dvou želatinových pásů ve formách a po naplnění se uzavírají zatavením. Důležitou částí výrobního procesu je proces sušení, který zahrnuje zpravidla

dvě fáze : předsušení v bubnových sušárnách a koncové sušení v tunelových sušárnách. Předsušením se co nejdříve sníží obsah vody v tobolkách, zabezpečuje se tak jejich stabilita, nezměněný tvar a sníží se jejich vzájemné slepování. Při sušení je nutné zachovat optimální teplotu a vlhkost, aby se stěna nestala vytvrzením křehkou nebo naopak měkkou a lepkavou<sup>3</sup>. Kvalitu a stabilitu tobolek ovlivňuje mnoho faktorů, např. vlastností želatinového gelu, vlastností náplně tobolky a migrace složek mezi náplní a stěnou. Ihned po vytvoření tobolek dochází k migraci vody a změkčovadel ze stěny do náplně, zatímco složky náplně mohou pronikat do stěny tobolky. Migrace vody do náplně může snížit schopnost rozpouštědla rozpustit účinnou látku, následuje krystalizace léčiva a jeho snížená biologická dostupnost<sup>5</sup>. Rozsah migrace vody do náplně závisí na použitém rozpouštědle v náplni, tj. dobrý výběr rozpouštědla v náplni může snížit migraci vody a tak zabránit krystalizaci léčiva. Léčivo však může krystalizovat také v důsledku migrace rozpouštědla z náplně do stěny tobolky<sup>6</sup>. Hygroskopická náplň je náchylná k absorpci vody ze stěny, která se tak stává křehkou. Tento jev může být ještě zřetelnější, pokud současně migruje také změkčovadlo. Problém lze řešit přidáním změkčovadel do stěny a současně také do náplně tobolek. Makrogoly používané často jako rozpouštědla v náplních migrují do stěny a změkčují ji za současné ztráty původního tvaru tobolek<sup>7</sup>. Také náplně obsahující ethanol, propylenglykol nebo glycerol jsou problematické vzhledem k jejich dobré mísitelnosti s vodou.

Měkké želatinové tobolky jsou lékovou formou často používanou pro léčiva velmi těžce rozpustná ve vodě, jejichž biologická dostupnost z ostatních tuhých perorálních lékových forem je velmi omezená. Mezi taková léčiva patří cyklosporin A, používaný pro imunosupresivní účinek při transplantacích, autoimunitních onemocněních a zánětlivých procesech. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v ethanolu, rozpustný v rostlinných olejích (Ph.B., Ph.Eur.). Perorální aplikace cyklosporinu A vyžaduje podání ve formě emulze, přičemž vyšší biologickou dostupnost léčiva vykazují emulze typu olej/voda<sup>8</sup>. U měkkých želatinových tobolek dochází ke spontánní emulgaci náplně v gastrointestinálním traktu, jsou proto pro uvedené léčivo vhodnou lékovou formou.

Cílem této experimentální práce bylo zjistit vliv složení náplně a použitých změkčovadel ve stěně tobolek na migraci vody jako součásti stěny a ethanolu jako rozpouštědla léčiva mezi stěnou a náplní a důsledek těchto změn na stabilitu rozpouštěného léčiva.

### Experimentální část

Léčivo a farmaceutické pomocné látky vyhovovaly lékopisným požadavkům (Ph.B., Ph.Eur.): cyklosporin A (IVAX, Opava) jako léčivo; olivový olej, kukuřičný olej (Gustav Hess, Stuttgart, G) a ethanol jako jeho rozpouštědla; glycerol-monooleát, -trioleát a jejich deriváty, lecithin (Nikko Chemicals Co., J), makrogoly (BASF Ludwigsha-

fen, G) a jejich směsi jako emulgátory náplně. Želatina – typ B 150 Bloom (Gelatine Delft, N), glycerol 99,5 % (Henry Lamott, Bremen, G), propylenglykol (BASF Ludwigshafen, G), nekystalizující sorbitol 70 % (Roquette Lestrem, F), a destilovaná voda tvořily stěnu tobulek.

Kompatibilita náplně s vodou (tj. maximální množství vody, které je možné přidat do náplně bez toho, aby nastala fázová separace) se stanovila postupným přidáváním vody do uzavřené baňky s náplní za stálého míchání. Oddělení fází se sledovalo vizuálně jako zákal nebo emulze přetrvávající déle než 1 min. Obsah vody se stanovil metodou K. Fischera a vyjádřil v %.

Vzhledem k tomu, že krystalizace léčiva v náplni z důsledku migrace vody ze stěny nastává později, provedla se zvláštní zkouška: po 3 g náplně se umísilo do 10 baněk (5 baněk pro každou náplň) a přidala se do nich voda v koncentraci od 1 do 3 %. Vzorok v uzavřených baňkách se uchovávaly při teplotě 22 °C a vzhled náplně se hodnotil mikroskopicky v intervalech 24, 48 a 72 hodin.

Tobolky velikosti 20 oblong se vyrobily (Sankyo SSM – A2, Sankyo Co. Ltd., J) z želatinové hmoty definované viskozity (rotační viskozimetr Brookfield RVDV-II, Brookfield Eng. Labs Inc., USA). Jejich předsušení probíhalo v bubnové sušárně (Sankyo Co. Ltd., J) 2 h při 33 °C, 22 % RV a sušení v tunelové sušárně (Kathabar, Somerset Technologies Inc., USA) při stejné teplotě a 17 % RV 3 dny.

Z jakostních parametrů náplně tobulek se určily obsah vody biamprometrickou titrací podle K. Fischera (701 KF Titrino (Metrohm, CH), obsah ethanolu a propylenglykolu

plynovou chromatografií (Hewlett Packard 5890, USA). Obsah vody ve stěně tobulek se stanovil ztrátou sušením prázdné tobolky v sušárně (Memmert UE 400, Memmert GmbH, G) při teplotě 105 °C, tloušťka želatinového pásu se měřila mikrometrem (Mitutoyo 2046F, Mitutoyo, J) a byla u všech vzorků stejná (0,8 mm). Vzhled náplně se hodnotil mikroskopicky (Peraval, Carl Zeiss, G) a zaznamenával kamerou (HPC CCD CoHu 2200, CoHu Inc., USA). Obsah léčiva, hmotnostní stejnoměrnost a rozpádivost se stanovily lékopisnými metodami (Ph.B., Ph.Eur.).

## Výsledky a diskuse

Vlastnosti náplně a stěny tobulek, zejména migrace rozpouštědel z náplně do stěny a naopak, ovlivňují kvalitu a stabilitu měkkých želatinových tobulek. Zkoušely se dva typy náplní s různými emulgátory a hodnotou HLR, sledovala se jejich kompatibilita s vodou a výskyt krystalů léčiva (tabulka I).

Předpokládala se ztráta ethanolu z náplně, v důsledku jeho migrace do stěny a odsušení, a migrace vody ze stěny do náplně při formování tobulek. Proto navržený obsah ethanolu v náplni byl vyšší, než experimentálně stanovená hodnota 8 %. Očekával se maximální obsah vody v náplni tobulek po sušení 1–2 %. Podle výsledků z tabulky I měla lepší vlastnosti náplň č. 2 s kukuřičným olejem: vyšší kompatibilitu s vodou 1,41 % a nižší výskyt krystalů léčiva.

Vliv složení želatinové hmoty, zejména typu a množství změkčovadla na migraci vody do náplně a na jeho

Tabulka I  
Vlastnosti náplní tobulek

Vlastnosti	Tobolková náplň					
	1			2		
Olej	olivový			kukuřičný		
Obsah ethanolu, %	10,70			10,70		
Obsah léčiva, %	10,64			10,64		
Emulgátor	lecithin, makrogol 1100, glycerol-trioleát			lecithin, makrogol 1100, glycerol-trioleát, glycerol-monooleát		
HLR	11,3			10,9		
Kompatibilita s vodou, %	0,78			1,41		
Krystalizace léčiva	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Obsah vody 1,0 %	–	+	++	–	–	–
1,5 %	+	++	++	–	–	–
2,0 %	+	++	++	–	–	+
2,5 %	++	++	+++	–	–	+
3,0 %	++	++	+++	–	+	++

– bez krystalů, +, ++, +++: krystal, jejich velikost a množství

Tabulka II  
Složení a vlastnosti želatinových hmot

Vzorek	Složení želatinové hmoty [%]						Viskozita [Pa s]
	želatina B 150	voda	Gly	Sorb	Progly	změkčovadla celkem	
A	43,0	26,0	1,0	30,0	–	31,0	13,20
B	44,0	32,0	16,0	8,0	–	24,0	15,00
C	45,0	30,4	24,6	–	–	24,6	13,45
D	43,0	23,0	–	30,0	4,0	34,0	20,55
E	43,0	27,0	–	20,0	10,0	30,0	19,50

konečný obsah v ní se předpokládá. Sledovalo se pět typů želatinových hmot (A–E): jejich složení a viskozitu uvádí tabulka II.

Kapaliny použité při formování náplně a stěny tobolk mají tendenci migrovat mezi těmito dvěma částmi při procesu sušení, zejména v prvních 4 až 5 h po výrobě. Pohyb rozpouštědel ovlivňují mimo použitých změkčovadel také viskozita želatinové hmoty a podmínky sušení<sup>9</sup>. Při sledování vlivu množství a složení změkčovadel se zjistilo, že stěna tobolek obsahující pouze glycerol usnadňovala únik ethanolu a vody z náplně (tabulka III – vzorek C). Výsledky také ukázaly, že náhradou glycerolu za sorbitol se permeabilita želatinové tobolky snižuje, brání se úniku ethanolu z náplně, ale současně také odsušení vody, která se bezprostředně po formování tobolek do náplně dostává (tabulka III – vzorek A). Tyto tobolky byly navíc velmi křehké. Vzhledem k tomu, že se pohyb složek v čerstvě formované tobolkové stěně děje póry vyplněnými vodou<sup>10</sup>, bude hrát pravděpodobně svou roli vzájemná mísitelnost změkčovadla s vodou a ethanolem. Sorbitol má na rozdíl od glycerolu podstatně větší afinitu k vodě než ethanolu, může tak omezovat jeho migraci z náplně tobolky. Údaje získané pro vzorek B obsahující směs obou změkčovadel jsou ve shodě s údaji získanými pro vzorky A a C. Ani kombinace obou změkčovadel nevedla k uspokojivým výsledkům obsahu ethanolu (více než 8 %) a vody (méně než 1,4 % – viz. tabulka I) v náplni zkoušených tobolek.

Při ponechání sorbitolu jako převažujícího změkčovadla (30 resp. 20 %, tabulka IV, vzorky D a E) a náhradě glycerolu za propylenglykol (4 resp. 10 %) se dosáhly optimální hodnoty pro ethanol (více než 8 %) a vodu (do 1 %) v náplni tobolek. Při velmi podobné rozpustnosti glycerolu a propylenglykolu (ve vodě, v ethanolu a v olejích) bude příčinou pravděpodobně o něco větší lipofilita propylenglykolu. Ta spolu s menší afinitou sorbitolu k ethanolu vytváří optimální kombinaci změkčovadel pro studovanou náplň tobolek. Vyšší koncentrace propylenglykolu ve stěně vede k jeho migraci do náplně a k pozitivnímu vlivu na rozpustnost léčiva (tabulka IV – vzorek E).

Hodnoty obsahu léčiva, hmotnostní stejnoměrnosti a rozpadu tobolek vyhovovaly lékopisným limitům.

Jako optimální pro danou náplň se ukázal vzorek E s obsahem změkčovadel sorbitolu a propylenglykolu v poměru 2:1, kde obsah ethanolu a vody v tobolkové náplni po sušení splňoval experimentálně stanovené jakostní limity a obsah propylenglykolu zabezpečoval jednofázový charakter náplně. Závěrem můžeme říci, že formování měkkých želatinových tobolek je velmi komplikovaným procesem, při kterém složení náplně a stěny tobolek, rozpustnost jednotlivých složek, stejně jako procesní proměnné se musí pečlivě zhodnotit tak, aby se získal optimální léčivý přípravek. Získané poznatky a postupy použité v experimentu lze uplatnit i u dalších léčiv a náplní částečně mísitelných s vodou.

Tabulka III  
Vliv změkčovadla na obsah ethanolu a vody v náplni tobolek při sušení

Vzorek	Změkčovadlo	Ethanol/voda v náplni [%]					
		0 h	1 h	4 h	24 h	48 h	64 h
A	1,0 % Gly	<u>12,36 ± 0,27</u>	<u>8,29 ± 0,28</u>	<u>8,07 ± 0,42</u>	<u>7,86 ± 0,26</u>	<u>7,78 ± 0,23</u>	<u>7,69 ± 0,27</u>
	30,0 % Sorb	0,29 ± 0,34	4,81 ± 0,44	4,43 ± 0,30	3,42 ± 0,32	2,95 ± 0,21	2,74 ± 0,22
B	16,0 % Gly	<u>12,36 ± 0,27</u>	<u>6,27 ± 0,58</u>	<u>5,94 ± 0,60</u>	<u>5,79 ± 0,54</u>	<u>5,78 ± 0,52</u>	<u>5,76 ± 0,60</u>
	8,0 % Sorb	0,29 ± 0,34	5,63 ± 0,26	4,17 ± 0,27	1,81 ± 0,19	1,08 ± 0,25	1,02 ± 0,17
C	24,6 % Gly	<u>12,36 ± 0,27</u>	<u>5,12 ± 0,50</u>	<u>4,26 ± 0,50</u>	<u>4,02 ± 0,31</u>	<u>3,94 ± 0,41</u>	<u>3,98 ± 0,40</u>
		0,29 ± 0,36	5,95 ± 0,28	3,81 ± 0,31	1,61 ± 0,24	0,82 ± 0,24	0,64 ± 0,20

Tabulka IV  
Vliv změkčovadel na kvalitu náplně tobolek po sušení

Vzorek	Viskozita [g cm <sup>-3</sup> ]	Změkčovadlo	Charakteristika náplně			
			ethanol [%]	voda [%]	Progly [%]	vzhled
D	20 550	30 % Sorb 4 % Progly	8,57	1,00	0	krystaly
E	19 500	20 % Sorb 10 % Progly	8,37	0,73	2,78	1 fáze bez krystalů

## S y m b o l y

Ph.B.	Český lékopis 2002
Ph. Eur.	Evropský lékopis 4. vydání, 2001
HLR	hydrofilně-lipofilní rovnováha
RV	relativní vlhkost
Gly	glycerol
Sorb	sorbitol 70% nekrystalizující
Progly	propylenglykol
%	hmotnostní procenta

*Current immunosuppression: an update*, (Hakim N. S., ed.). Royal Society of Medicine Press Ltd., London 1997.

- Kolčák J., Stuchlík M., Rabišková M.: Čes. Slov. Farm. 52, 181 (2003).
- Moreton R. C., Armstrong N. A.: Int. J. Pharm. 161, 123 (1998).

**J. Kolčák<sup>a</sup>, M. Rabišková<sup>b</sup>, and M. Stuchlík<sup>c</sup>**  
(<sup>a</sup>Pliva – Lachema, Brno, <sup>b</sup>Institute of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Veterinary and Pharmaceutical University Brno, <sup>c</sup>Ivax Pharmaceuticals Ltd., Opava): **Soft Gelatin Capsules Containing Surfactants and Ethanol**

The production of soft elastic gelatin capsules is a unique operation influenced by many factors. The fill and shell composition and conditions of drying are most important as they can reduce the liquid migration from the capsule wall into the fill and vice versa. Plasticizers improving elastic properties of soft gelatin capsules determine their hardness or softness as well as the dissolution rate of the shell. They play also an important role in liquid migration and thus have a great influence on capsule stability and bioavailability of the drug dissolved in the fill. The fill composition, plasticizers used in the capsule wall and their influence on the liquid migration and fill stability were studied.

## LITERATURA

- Samura K.: Drug Dev. Ind. Pharm. 19, 2579 (1993).
- Farhing W., Hofer U.: *Die Kapsel: Grundlagen, Technologie und Biopharmazie einer modernen Arzneiform*, str. 58. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart 1983.
- Augsburger L. L., v knize: *Modern Pharmaceutics* (Banker G. S., Rhodes C. T., ed.), kap. 11. Marcel Dekker Inc., New York 2002.
- Bauer K. H., Dortunc B.: Drug Dev. Ind. Pharm. 10, 699 (1984).
- Serajuddin T. M., Sheen P. C., Augustine M. A.: J. Pharm. Sci. 75, 62 (1986).
- Scherer R. P.: EP Patent 0 257 386 (1991).
- Scherer R. P.: UK Patent, 2 282 586 (1998).
- Duchin K.: *Proceedings of Round table series No. 49*:

---

## NOMENKLATURA A TERMINOLOGIE

---

### DOPORUČENÍ IUPAC

#### Guidelines for Potentiometric Measurements in Suspensions – Practical pH Measurements in Soil Suspension

The measured cell potentials for suspension potentiometric cells have been interpreted and explained by a detailed analysis of the schemes for these cells. Some former disagreements amongst investigations have been clarified. A new unambiguous operational definition of the suspension effect is presented. It is defined as the difference in cell potential for two suspension potentiometric cells, one with both electrodes in the separated equilibrium solution and the other with both electrodes in the sediment or suspension. This potential difference is the sum of the change in the indicator electrode potential and the change in the liquid junction potential of the reference electrode, when the electrodes are used for measurement, once in the sediment of the suspension and then in its equilibrium solution.

Otiskujeme synopsi názvoslovného návrhu z oboru analytické chemie, který byl připraven divizí IUPAC pro analytickou chemii. Návrh je určen k posouzení a kritice chemické veřejnosti. Zájemci o bližší informace či o text návrhu se mohou obrátit na adresu Národního střediska IUPAC v České republice:

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

Návrh je též vystaven na webové stránce IUPAC na adrese:  
[http://www.iupac.org/reports/provisional/abstract06/oman\\_300906.html](http://www.iupac.org/reports/provisional/abstract06/oman_300906.html)  
Připomínky k návrhu je třeba zaslat do 30. září 2006 na adresu:

Prof. Srečko F. Oman  
Department of Physical Chemistry  
University of Ljubljana, P.O. Box 537  
Askerceva 5  
SL-1001 Ljubljana  
Slovenia  
e-mail: srecko.oman@fkkt.uni-lj.si

#### Glossary of Terms Used in Toxicology

This glossary, a revision of the IUPAC "*Glossary for Chemists of Terms Used in Toxicology*" [1] incorporating new and redefined terms from the "*Glossary of Terms Used in Toxicokinetics*" [2], contains definitions and explanatory notes, if needed, for terms frequently used in the multidisciplinary field of toxicology. The glossary is compiled primarily for those scientists and others who now find themselves working in toxicology or requiring a knowledge of the subject, especially for hazard and risk assessment. Many medical terms are included because of their frequent occurrence in the toxicological literature. There are three annexes, one containing a list of abbreviations and acronyms used in toxicology, one containing a list of abbreviations and acronyms used by international bodies and by legislation relevant to toxicology and chemical safety, and one describing the classification of carcinogenicity according to the weight of evidence available.

[1] *Pure Appl. Chem.* 65(9), 2003–2122, 1993  
[2] *Pure Appl. Chem.* 76(5), 1033–1082, 2004

Otiskujeme synopsi názvoslovného návrhu z oboru toxikologie, který byl připraven divizí IUPAC Chemie a lidské zdraví. Návrh je určen k posouzení a kritice chemické veřejnosti. Zájemci o bližší informace či o texty návrhů se mohou obrátit na adresu Národního střediska IUPAC v České republice:

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

Návrh je též vystaven na webové stránce IUPAC na adrese  
[http://www.iupac.org/reports/provisional/abstract06/duffus\\_300906.html](http://www.iupac.org/reports/provisional/abstract06/duffus_300906.html)

Připomínky k návrhům je třeba zaslat do 30. září 2006 na adresu:

Dr. John H. Duffus  
Edinburgh Centre for Toxicology  
43 Mansionhouse Road  
Edinburgh, EH9 2JD  
Velká Británie  
e-mail: j.h.duffus@blueyonder.co.uk



## VÝUKA CHEMIE

### TEPLOMĚR, TLAKOVÝ HRNEC A ŠKOLA

PETRA ANDRÝSKOVÁ a HANA CÍDLOVÁ

*Katedra chemie, Pedagogická fakulta Masarykovy univerzity, Poříčí 7, 603 00 Brno  
cidlova@centrum.cz*

Došlo 12.12.05, přijato 5.3.06.

Klíčová slova: didaktika chemie, studentský vědomostní test

#### Úvod

Je známo, že je obtížné dosáhnout v přírodovědném vzdělávání takového stavu, aby žáci a studenti dokázali svoje vědomosti získané ve škole také využít v praxi v nemodelových situacích, tj. takových, ke kterým nezískali ve škole algoritmus řešení.

Charakterizováním schopnosti studentů středních škol aplikovat své vědomosti na reálné situace se zabývá např. práce J. Reguliho<sup>1</sup>. Reguli upozorňuje na vznik tzv. „naivních teorií“. Jsou to neúplné, izolované teorie vznikající v myšlenkách žáků, často obsahující řadu mylných představ. Jsou obvykle velmi trvanlivé a při dalším studiu nebo v dalším životě jen obtížně napravitelné.

Problematika schopnosti prakticky aplikovat vědomosti získané ve škole nás zajímala na úrovni studentů gymnázia a vysokoškolských studentů učitelství chemie. Výzkum byl proveden pomocí testování.

#### Provedení testování

##### V ý b ě r r e s p o n d e n t ů

Respondenti byli vybíráni na základě dostupnosti – jednalo se o studijní skupiny studentů ze spolupracujících pracovišť. V rámci studijních skupin šlo pak víceméně o totální výběr – testy byly zadány v rámci povinné výuky všem přítomným studentům. Testování se zúčastnilo 125 respondentů v následujícím složení:

- vzorek G (25 respondentů) – studenti gymnázia,
- vzorek V (100 respondentů) – vysokoškolští studenti učitelství chemie.

Je zřejmé, že vzorky respondentů vybrané tímto způsobem nejsou reprezentativní. Dá se však očekávat, že:

- vzorek G (jedna třída) byl různorodější co se týká

studijních předpokladů, zájmu o studium, zájmu o různé vyučovací předměty; naopak byl homogenní, pokud jde o vyučující,

- vzorek V (6 studijních skupin ze tří vysokých škol) naopak obsahoval respondenty vybrané na základě zájmu o studium učitelství chemie, na základě přijímací zkoušky a pak také na základě studijních výsledků (jednalo se vesměs o studenty vyšších ročníků). Všichni respondenti vzorku V prošli vysokoškolskou výukou obecné chemie (která především by je měla naučit přemýšlet o souvislostech v chemii a aplikovat získané vědomosti na chemické problematiky) a přibližně dvě třetiny z nich absolvovaly vysokoškolskou výuku fyzikální chemie. Jednotlivé skupiny respondentů vzorku V však byly vzdělávány různými vyučujícími.

##### Podmínky testování

Respondenti v naší práci na testování nebyli upozorněni předem. Při práci nesměli používat žádnou literaturu kromě periodické tabulky. Pracovali samostatně pod dozorem vyučujícího, doba řešení celého testu (přibližně 45 položek) byla omezena na 60 minut.

Naopak Reguli<sup>1</sup> ke své práci využil výsledky Korespondenčního semináře z chemie. V jeho případě respondenti mohli využít jakékoli informační zdroje včetně diskuse se svými vyučujícími, doba na vypracování odpovědí prakticky nebyla omezená.

##### V ý b ě r u č i v a p r o t e s t o v á n í, u s p o ř á d á n í t e s t u

Schopnost aplikovat své vědomosti a znalosti na reálné situace byla zkoumána pomocí testu. Pro testování byly vybrány otázky z učebnic chemie pro základní školy a běžné reálné situace. Kromě aplikačních úloh test obsahoval tzv. kontrolní otázky (nebyly počítány do celkového skóre), které měly sledovat, zda student zná učivo potřebné k vyřešení příslušné aplikační úlohy.

Přestože test po úpravách obsahoval především polytomické položky s výběrem odpovědi, obsahoval také několik položek s odpovědí volnou. V tomto článku předkládáme vyhodnocení odpovědí na dvě aplikační úlohy s volnou odpovědí, které se ukázaly být velmi obtížné. Znění těchto aplikačních úloh bylo následující:

1. Žákovi byla položena otázka: *Proč se teploměry v polárních oblastech neplní rtutí, ale obarveným ethanolem?*

Žák odpověděl: *Důvodem je, že rtuť zamrzá již při teplotě přibližně  $-39\text{ }^{\circ}\text{C}$ , zatímco líh při teplotě podstatně nižší ( $-114\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).*

Údaje v odpovědi žáka jsou správné, ale odpověď je neúplná. Dokončete ji.

2. Žákovi byla položena otázka: *Proč se v tlakovém hrnci uvaří maso mnohem dříve než v obyčejném hrnci?* Žák odpověděl: *V tlakovém hrnci je tlak větší než normální atmosférický, proto v něm voda vře při vyšší teplotě než v hrnci normálním a maso se tak dříve uvaří.*

Odpověď žáka je neúplná. Co nejpřesněji ji dokončete.

První úloha se ptá na uplatnění znalostí o teplotní roztažnosti látek. Většina látek mění svůj objem při změnách teploty mnohem méně ve skupenství pevném než ve skupenství kapalném. Pokud tedy náplň teploměru zamrzne, jsou posuny její hladiny na stupnici tak malé, že se téměř nedají pozorovat okem a takový teploměr je pro běžné použití nevhodný.

Toto vysvětlení je poměrně složité a od žáků na základní škole se neočekává (otázka „*Proč se teploměry v polárních oblastech neplní rtuť, ale obarveným ethanolem?*“ byla převzata z literatury<sup>2</sup>). Již středoškolské vzdělání však stačí na dokončení odpovědi; otázka na teplotní roztažnost byla zařazena jako kontrolní. Zajímalo nás, jaká část respondentů ze středních až vysokých škol překročí stereotyp základní školy a odpověď správně dokončí.

Druhá úloha je otázkou z oblasti chemické kinetiky. Správná odpověď vyžaduje vysvětlení, že podstatou vaření masa je (kromě jiného) chemická přeměna některých složek, která probíhá při dostatečně vysoké teplotě. Při zvýšení teploty varu se zvýší teplota, při níž probíhají potřebné chemické děje v mase, tím se tyto děje (jako každá chemická reakce) urychlí a tím se zkrátí doba potřebná k uvaření masa.

Tato úloha byla vymyšlená, převzatá z běžného života. Obtížná část odpovědi na otázku „*Proč se v tlakovém hrnci uvaří maso mnohem dříve než v obyčejném hrnci?*“ týkající se souvislosti teploty varu s vnějším tlakem a s tenzí par je v zadání úlohy vysvětlena ústy „žáka“. Pochopení, že podstatné procesy probíhající v mase při jeho vaření mají kromě jiného i chemickou podstatu, by mělo být výsledkem studia učebnice<sup>3</sup> pro základní školu; souvislost rychlosti chemických reakcí s teplotou je uvedena v předchozím díle<sup>2</sup>. Oba tyto požadavky na vědomosti byly zařazeny do kontrolních otázek.

#### Kontrolní otázka k aplikační úloze č. 1:

- Při změně teploty se objem pevných látek ve srovnání s kapalinami obvykle mění:
  - méně
  - stejně
  - více
  - nelze říci

#### Kontrolní otázky k aplikační úloze č. 2:

- Principem (ne cílem) vaření je:
  - vytvoření chutné směsi potravin
  - změna skupenství potravin

- fyzikální a chemická přeměna potravin
  - zvýšení teploty potravin
- Zvýšením teploty se chemická reakce:
    - zrychlí
    - zpomalí
    - někdy zrychlí a někdy zpomalí
    - nedojde ke změně

#### Způsob vyhodnocení testu

Při vyhodnocování nás zajímal také vztah mezi odpovědí na aplikační úlohy ve srovnání s odpovědí na kontrolní otázky. Mohly v principu nastat čtyři případy, které jsou v následujícím textu označeny zkratkami AA, AN, NA, NN. V komentářích zanedbáváme případy, kdy se respondent spletl při zápise do odpovědního archu.

**AA Správná odpověď na kontrolní otázku i na aplikační úlohu.** Respondent měl (nebo uhadl) potřebnou znalost a odvodil (nebo uhadl, resp. si např. ze školy pamatoval) správnou odpověď na aplikační úlohu.

**AN Správná odpověď na kontrolní otázku, ale nesprávná nebo chybějící odpověď na aplikační úlohu.** Respondent sice měl (nebo uhadl) potřebnou znalost, ale nedokázal ji využít k řešení aplikační úlohy.

**NA Nesprávná nebo chybějící odpověď na kontrolní otázku, ale správná odpověď na aplikační úlohu.** Respondent neměl potřebné znalosti a odpověď na aplikační úlohu buď uhadl, nebo si ji pamatoval.

**NN Nesprávná nebo chybějící odpověď na kontrolní otázku a nesprávná nebo chybějící odpověď na aplikační úlohu.** Respondent neměl znalosti ani nebyl schopen reprodukovat odpověď na aplikační úlohu.

#### Rozbor nesprávných a chybějících odpovědí

Některé nesprávné odpovědi se opakovaly v různých formulacích u řady respondentů. Tyto odpovědi shrnuje následující přehled a jsou označeny písmeny. Přehled neobsahuje doslovné znění odpovědí (s ohledem na jejich různé konkrétní formulace), ale vystihuje jejich podstatu. Opakující se nesprávné odpovědi jsou v přehledu klasifikovány podle<sup>1</sup> na odpovědi typu:

- *špatně* (respondent se pokouší odpovědět, ale odpověď je špatná),
- *mimo* (odpověď neodpovídá na položenou otázku),
- *opis* (respondent pouze jinými slovy opisuje zadání).

#### Aplikační úloha 1, odpovědi typu *špatně*

**A** *Rtuť při ztuhnutí zvětší svůj objem a teploměr praskne.*

Jedná se o velmi častou odpověď (poskytlí ji také absolventi odborného studia fyziky na PŘF UK v Praze<sup>4</sup>), zřejmě vycházející ze všeobecného povědomí o tom, že voda při tuhnutí svůj objem zvětšuje, takže předměty, ve kterých zamrzla voda, se mohou

roztrhat. S tímto faktem se lidé setkávají již od dětství, a to poměrně často. Většina z nich pravděpodobně ví, že se jedná o anomální vlastnost vody, zatímco rtuť se tento jev netýká, avšak zaběhnutý stereotyp je při řešení testu zřejmě silnější. Tento typ odpovědi by mohl patřit k tzv. „naivním teoriím“ podle<sup>1</sup>.

#### Aplikační úloha 1, odpovědi typu *mimo*

**B** *Různé otázky a komentáře týkající se atmosférického tlaku.*

Tento typ odpovědi poskytla především řada respondentů ze skupiny AN. Tito respondenti zřejmě ze svého středo- a vysokoškolského vzdělání vědí, že teplota tání/tuhnutí souvisí s vnějším tlakem. Chybí jim ovšem praktická představa o tom, jak je zmíněný vliv velký a jak moc může v přírodních podmínkách kolísat atmosférický tlak.

**C** *Barví se, protože čistý ethanol je bezbarvý a nebyl by vidět.*

Toto tvrzení je sice pravdivé, ale neodpovídá na položenou otázku.

**D** *Rtuť je toxická.* Tvrzení je sice pravdivé, ale neodpovídá na položenou otázku.

#### Aplikační úloha 1, odpovědi typu *opis*

**E** *Rtuť zamrzne a neukazuje teplotu, zatímco lín ji ukazuje.*

Velmi častá odpověď, zřejmě mnohokrát slyšená a vyslovená na základní škole. Při dané formulaci aplikační úlohy č. 1 je však pouhým opisem „žákovy“ odpovědi.

**F** *V polárních oblastech bývá teplota i pod  $-39\text{ }^{\circ}\text{C}$ .*

Toto tvrzení je sice pravdivé, ale je víceméně nevyslovenou součástí zadání.

#### Aplikační úloha 1, ostatní odpovědi

**J** *Jiné.*

**N** *Bez odpovědi.*

#### Aplikační úloha 2, odpovědi typu *špatně*

**A** *Odpověď žáka pokládám za úplnou.* Tento typ odpovědi odporuje zadání.

**B** *Voda vře už při nižší teplotě, tedy dřív, proto je celková doba vaření kratší.*

Tento typ odpovědi je v přímém rozporu se zadáním, přesto je častý a poukazuje na stereotyp v myšlení. Zřejmě by tento typ odpovědi mohl patřit k tzv. „naivním teoriím“ podle<sup>1</sup>.

#### Aplikační úloha 2, odpovědi typu *mimo*

Tyto odpovědi byly originální, neopakovaly se u více respondentů.

#### Aplikační úloha 2, odpovědi typu *opis*

**C** *Různé parafráze „žákovy“ odpovědi.*

Pokud jde o správnost, je tento typ odpovědi srovnatelný s odpověďmi skupiny A. Pokud jde o uvažování respondenta, je tento případ poněkud horší, protože

respondent si neuvědomuje, že odpověď nezná, nebo to odmítá přiznat.

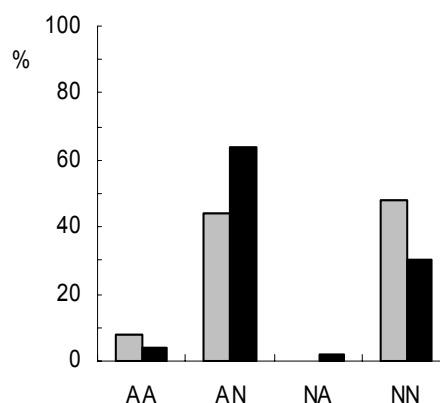
#### Aplikační úloha 2, ostatní odpovědi

**J** *Jiné.*

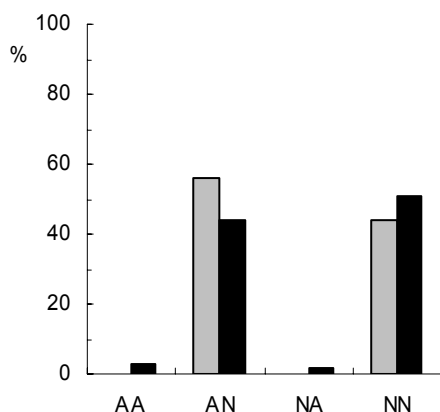
**N** *Bez odpovědi.*

### Diskuse

Během přípravy testů se ukázalo, že je velice obtížné bez osobní konzultace odlišit, kdy žák určitému jevu skutečně nerozumí a kdy se pouze nedokonale vyjadřuje. Na některé položky s volnou odpovědí (v původní verzi testu byly doslovně převzaty z učebnic<sup>2,3,5,6</sup> pro základní školu) totiž v některých případech neúplně odpovídali i vysokoškolské pedagogové, kteří byli požádáni o pomoc při posouzení objektivnosti testu<sup>4</sup>. U těch se však stěží dá očekávat skutečná neznalost. Jejich odpovědi i reakce při násled-



Obr. 1. Úspěšnost řešení úlohy 1 v procentech z celkového počtu respondentů ve vzorku G (25), resp. V (100); šedá – vzorek G, černá – vzorek V



Obr. 2. Úspěšnost řešení úlohy 2 v procentech z celkového počtu respondentů ve vzorku G (25), resp. V (100); šedá – vzorek G, černá – vzorek V

dující osobní diskusi poukazují spíše na zažité zkratky v myšlení, které následně mohou snížit kvalitu komunikace mezi učitelem a žákem („to snad dá rozum...“) a následně žákovi ztížit, případně i znemožnit porozumění. Pokud učitel část úvahy vynechává již při vysvětlování, nedá se očekávat, že by tuto část vyžadoval následně od žáků např. při zkoušení. Tak se může stát, že žák učivu vlastně neporozumí, ale domnívá se, že rozumí, protože učitel je spokojen (s neúplnou odpovědí). Domníváme se, že tento jev je v myšlení lidí poměrně častý, což koresponduje s výsledky testování (poměrně mnoho odpovědí ve skupině AN).

Z grafů na obr. 1, obr. 2 je patrné, že:

- obě aplikační úlohy byly pro respondenty velmi obtížné,
- mezi vzorkem respondentů V a G jsou mnohem menší rozdíly, než by se dalo na první pohled očekávat na základě odlišného vzdělání respondentů,
- u obou aplikačních úloh se ukázalo, že naprostá většina respondentů, kteří mají potřebné znalosti, není schopna správně odpovědět (slabá skupina AA, silná skupina AN),
- u obou aplikačních úloh se dá tušit vliv studia učitelství chemie na znalosti: u obou aplikačních úloh se totiž vyskytli respondenti vzorku V, kteří správně odpověděli na aplikační úlohu, aniž by k tomu měli potřebné znalosti; odpovědi tedy nemohli logicky odvodit a pravděpodobně jen reprodukovali odpověď, se kterou se při studiu setkali; tuto domněnku podporuje fakt, že do skupiny NA nespadol ani jeden student gymnázia ani u jedné aplikační úlohy,
- při řešení aplikační úlohy 1 byli studenti gymnázia poněkud úspěšnější než při řešení aplikační úlohy 2 a taktéž byli u aplikační úlohy 1 relativně úspěšnější než vysokoškolští studenti. Patrně by to mohlo souviset s tím, že otázka teplotní roztažnosti je učivem středoškolské fyziky, zatímco ve studijním programu učitelství chemie může snadno být opomenuta,
- výsledek získaný se vzorkem G u aplikační úlohy č. 2 (tlakový hrnec) nelze srovnávat se zjištěními Reguliho<sup>1</sup> (v jeho případě u obdobné otázky měli respondenti téměř 60% úspěšnost), protože se velmi podstatně lišily podmínky práce respondentů – viz Podmínky testování. Lišila se i formulace otázky – v práci<sup>1</sup> byla problematika rozložena na několik dílčích otázek, které respondenty částečně vedly ke správné odpovědi.

Pokud jde o rozbor nesprávných odpovědí, pro vyučující by mohly být zajímavé zejména špatné odpovědi těch respondentů, kteří měli potřebné znalosti k tomu, aby mohli odpovědět dobře.

#### Aplikační úloha 1

Ve vzorku G převládla odpověď B (*různé otázky a komentáře týkající se atmosférického tlaku*), u vzorku V mírně převažovala odpověď A (*rtuť při ztuhnutí zvětší svůj objem a teploměr praskne*), která byla ve vzorku G

také poměrně častá. Současně se jedná o velice častou odpověď ze skupiny NN. Je zřejmé, že při výuce o hustotě, teplotní roztažnosti a skupenských změnách by se mělo více zdůrazňovat, že chování vody je anomální a většina látek se chová opačně. Více k této problematice je diskutováno přímo v přehledu typických nesprávných odpovědí.

#### Aplikační úloha 2

Ve vzorku G zcela převládla odpověď A (*odpověď pokládám za úplnou*). Je zajímavé, že ve vzorku V tak neodpověděl žádný respondent.

Poměrně častá je odpověď B (*voda vře už při nižší teplotě, tedy dřív, proto je celková doba vaření kratší*), přestože (kromě toho, že je věcně špatná) je v přímém rozporu se zadáním.

Ve vzorku V je nejčastější odpověď C (a to jak ve skupině AN, tak NA), kdy respondent jen vlastními slovy převypráví zadání.

K rozboru nesprávných odpovědí podle Reguliho<sup>1</sup> bychom rády konstatovaly, že zařazení nesprávných odpovědí do některé ze skupin *špatně*, *mimo*, *opis* nám v některých případech připadalo problematické a nejednoznačné. Typickým příkladem je odpověď A u aplikační úlohy 2, kterou by kromě skupiny *špatně* bylo taktéž možno zařadit do skupiny *neodpověděl*.

#### Závěr

Práce uvádí pouze malou část výsledků získaných během testování. Neklade si za cíl podat kompletní zprávu o výsledcích testování, ale zaměřuje se jen na dvě zajímavé položky. Respondentů bylo poměrně málo a obě skupiny se podstatně lišily počtem respondentů. Výběr respondentů nebyl v rámci republiky reprezentativní a nebyl ani náhodný; byl omezen především ochotou škol spolupracovat na testování. Možnost zobecnění výsledků na populaci je tedy velmi omezená. Za přínos práce pokládáme především přehled nejčastějších nesprávných odpovědí, který by mohl upozornit vyučující na některé nedostatky v transformaci učiva do myslí žáků a tím by mohl napomoci k jejich odstranění. Další problémy, zmíněné v kapitole Diskuse, zamýšlíme prověřit na širším vzorku respondentů.

#### LITERATURA

1. Reguli J.: Chem. Listy 98, 201 (2004).
2. Beneš P., Pumpr V., Banýr J.: *Základy chemie 1 pro 2. stupeň základní školy, nižší ročníky víceletých gymnázií a střední školy*. 3. vyd. – dotisk. Fortuna, Praha 2004.
3. Beneš P., Pumpr V., Banýr J.: *Základy chemie 2 pro 2. stupeň základní školy, nižší ročníky víceletých gymnázií a střední školy*. 3. vyd. – dotisk. Fortuna, Praha 2003.
4. Cídllová H.: nepublikované výsledky.

5. Beneš P., Pumpr V., Banýr J.: *Základy chemie 1 – pracovní sešit*. Fortuna, Praha 1996.
6. Beneš P., Pumpr V., Banýr J.: *Základy chemie 2 – pracovní sešit*. Fortuna, Praha 1997.

**P. Andrýsková and H. Cídllová** (*Department of Chemistry, Pedagogical Faculty, Masaryk University, Brno*): **Thermometer, Pressure Cooker and School**

The ability to apply in practice the knowledge obtained in the subjects chemistry and physics was tested in groups of secondary school students and university students of chemistry teaching. The test results are discussed.

---

## RECENZE

---

George A. Olah, Alain Goepfert,  
G. K. Surya Prakash

### Beyond Oil and Gas: The Methanol Economy

Vydal Wiley-VCH, Weinheim 2006, stran 290  
ISBN 3-527-31275-7

Tématem recenzované knihy je jeden z možných postupů, který má umožnit lidstvu snížit jeho závislost na zásobách ropy, zemního plynu i uhlí a postupně se jí i zbavit. Tento koncept označovaný jako „Methanol Economy®“ – „methanolová ekonomika“ je, jak již název napovídá, založen na širokém použití methanolu jako média určeného ke skladování a přenosu energie získané z klasických i alternativních zdrojů.

Téměř polovina knihy se zabývá přehledem zdrojů energie, které jsou dostupné nebo by se mohly stát dostupnými v blízké budoucnosti. Tento přehled je poměrně vyčerpávající. V části týkající se fosilních paliv se neomezuje jen na ropu, zemní plyn a uhlí, ale věnuje se i v současnosti málo využívaným zdrojům jako jsou bituminózní písky a břidlice, methanové hydráty, apod. V části věnované obnovitelným zdrojům je popsán potenciál různých způsobů využití vodní, větrné, geotermální a solární energie, včetně energie biomasy. Přehled je uzavřen částí týkající se jaderné energie. Ve všech částech tohoto hrají klíčovou úlohu informace o kapacitě daného zdroje, jeho ekologické rizikovosti a o jeho potenciálu pro pokrytí potřeb kapalných nebo jiných paliv, vhodných pro dopravní sektor.

Z knihy je patrné, že autoři spatřují v „methanolové ekonomice“ alternativu k představě ekonomiky založené na vodíku, která má v současnosti masivní podporu zejména v USA. Proto je součástí knihy poměrně podrobný roz-

bor možností výroby vodíku, jeho využití jako sekundárního zdroje energie pro dopravu a v palivových článcích a problémů jeho skladování a přepravy.

Druhá polovina knihy je již věnována methanolu samotnému. Jsou zhodnoceny jeho fyzikální a chemické vlastnosti důležité pro jeho skladování, přepravu a použití jako sekundárního zdroje energie. Methanol je z těchto hledisek porovnán s fosilními palivy a s vodíkem. Zvláštní pozornost patří použití methanolu a jeho derivátů (např. dimethyletheru) jako automobilových paliv a použití methanolu jako přímého i nepřímého paliva pro palivové články. Autoři knihy vycházejí z představy, že „methanolovou ekonomiku“ by bylo možné nastartovat methanolem získaným z neobnovitelných zdrojů s tím, že dojde alespoň z části k postupnému přechodu na obnovitelné zdroje. Kapitola věnovaná výrobě methanolu proto zahrnuje především pestrou paletu možností jeho výroby z různých fosilních paliv a doplňuje ji možnými alternativními cestami z biomasy, bioplynu, vodních rostlin a řas, ale např. i částečnou recyklací CO<sub>2</sub> z atmosféry s využitím vysokého obsahu vodíku v zemním plynu. Využití methanolu pro petrochemické účely je rozebráno méně podrobně a je zaměřeno na popis procesů jeho konverze na olefiny a benzin.

Knihla představuje ucelený přehled zdrojů energie, které má lidstvo k dispozici a představuje koncept methanolu jako média pro skladování a konverzi energie z nejrůznějších zdrojů. Přehledný a snadno srozumitelný text je doplněn množstvím literárních odkazů na úže specializovanou literaturu. Lze proto předpokládat, že může splnit cíl, který autoři deklarují v předmluvě, tj. přitáhnout pozornost k methanolu a podpořit další rozvoj aktivit v této oblasti jeho použití.

Petr Zámostný

## **Odborný seminář CHEMICKÁ LEGISLATIVA ZÍTRA - REACH**

PARTNEŘI A PROGRAMY VaV v EU (NTP SusChem ČR, LRI, 7. RP)

Svaz chemického průmyslu ČR, se spoluúčastí Asociace malých a středních podniků a živnostníků ČR, organizuje seminář „CHEMICKÁ LEGISLATIVA ZÍTRA – REACH. PARTNEŘI A PROGRAMY VaV v EU (NTP SusChem ČR, LRI, 7. RP)“

**5. 10. 2006**

v Kongresovém centru, 5. května 65, Praha 4,  
(sál Panorama, 1. patro, vstup hlavním vchodem č. 5)

Na semináři vystoupí zástupci:

Evropské komise

Cefic

Ministerstva průmyslu a obchodu

Ministerstva životního prostředí

Svazu chemického průmyslu Německa

Svazu chemického průmyslu ČR

Asociace malých a středních podniků a živnostníků ČR

EUREKA

Seminář se bude zabývat aktuálními otázkami přípravy nové chemické legislativy REACH a její implementace. Zvýšenou měrou bude studovat i otázky vědy a výzkumu v evropském a českém kontextu s důrazem na technologickou platformu udržitelné chemie a možnosti zapojení pro české subjekty.

Účast představitelů členských organizací SCHP ČR, přidružených federací SCHP ČR (AVNH ČR, SCHOD ČR), členů Asociace malých a středních podniků a živnostníků ČR a státních institucí je zdarma (do počtu 3 účastníků z jedné společnosti či instituce).

Vstupní poplatek pro ostatní účastníky: 1500 Kč + 19 % DPH, tj. 1785,- Kč.

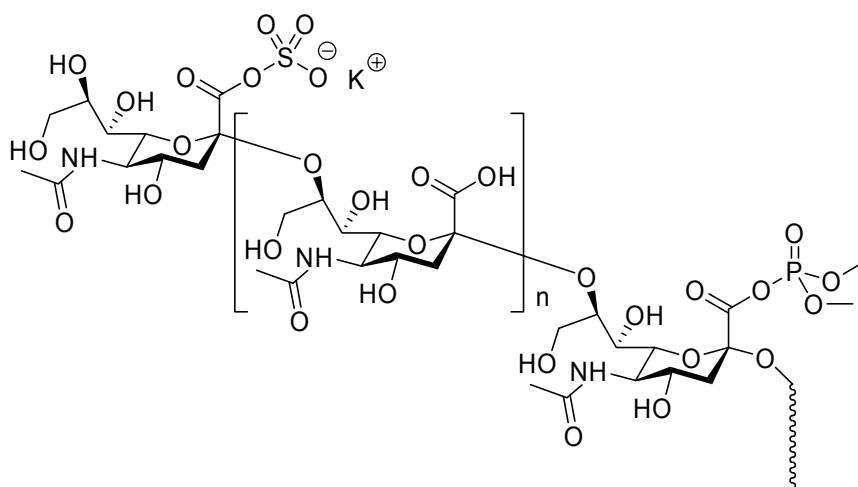
Program semináře a přihláška je k dispozici na [www.schp.cz](http://www.schp.cz). Váš zájem o účast na semináři můžete projevit na adrese [vladimir.janecek@schp.cz](mailto:vladimir.janecek@schp.cz) nebo faxem: 266 793 578.

Ústav chemie a technologie  
sacharidů VŠCHT Praha



Ústav živočišné fyziologie  
a genetiky AV ČR

Česká společnost chemická



## POLYSACHARIDY II: „STRUKTURA A BIOLOGICKÉ ÚČINKY POLYSACHARIDŮ A JEJICH DERIVÁTŮ“

10. listopadu 2006  
Novotného lávka 5, Praha 1

*Vážení kolegové,*

*dne 10.11.2006 se koná pod patronátem České společnosti chemické konference Polysacharidy II: „Struktura a biologické účinky polysacharidů a jejich derivátů“, která je pokračováním úspěšné konference na stejné téma v roce 2005. Není možné stručným způsobem popsat vznik polysacharidů v přírodě a jejich průmyslovou produkci. Jejich využití je rovněž pestré a snad s výjimkou bílého cukru jsou obsaženy ve všech potravinářských výrobcích, jsou součástí farmaceutických produktů a jsou složkou dalších průmyslových výrobků. Některé polysacharidy se vyznačují léčivými účinky.*

*Izolace polysacharidů, jejich derivatizace a následná analýza, které předcházejí vlastnímu využití, jsou náročné úkoly. Konference Polysacharidy II: „Struktura a biologické účinky polysacharidů a jejich derivátů“ se právě těmito otázkami zabývá a soustřeďuje pracovníky z univerzit, vědecko-výzkumných institucí a výrobních společností z Česka a Slovenska.*

*Přeji účastníkům konference užitečné a příjemné zážitky v kouzelné části Prahy.*

*Jana Čopíková  
předseda odborné skupiny Chemie a technologie sacharidů České společnosti chemické*



## VLIVY PŮSOBÍCÍ NA OBSAH NEŠKROBOVÝCH POLYSACHARIDŮ V ZRNU JARNÍHO JEČMENE

JAROSLAVA EHRENBERGEROVÁ<sup>a</sup>, NATÁLIE BELCREDIOVÁ<sup>a</sup>, PAVLA HAVLOVÁ<sup>b</sup>  
a KATEŘINA VACULOVÁ<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno; <sup>b</sup> Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s., Mostecká 7, 614 00 Brno; <sup>c</sup> Agrotest, s. r.o., Havlíčkova 2787, 767 01 Kroměříž  
ehren@mendelu.cz

Neškrobové polysacharidy –  $\beta$ -glukany jsou důležité v humánní výživě z důvodu schopnosti snižovat krevní cholesterol<sup>1</sup> a mají i antikarcinogenní účinky<sup>2</sup>. Většina problémů v pivovarnictví je však také připisována zejména  $\beta$ -glukanům ale i arabinoxylanům<sup>3</sup>.

Významně vyšší obsah  $\beta$ -glukanů měly v pětiletém období (2000–2004) waxy odrůdy jarního ječmene Washonubet, Wabet a Wanubet (6,77–7,57 %) a linie pocházející z křížení těchto odrůd s odrůdami sladovnického typu (5,78–7,03 %). Naopak významně nižší obsah měly pluchaté odrůdy sladovnického typu Kompakt (4,03 %) a Krona (4,30 %). Odrůda Krona měla i významně nižší průměrný obsah arabinoxylanů (5,45 %) oproti většině odrůd a linií a naopak odrůda Wabet měla nejvyšší obsah arabinoxylanů (7,78 %). Ze statisticky zhodnocených výsledků lze usoudit, že koncentrace  $\beta$ -glukanů<sup>4</sup> i arabinoxylanů<sup>5</sup> byla v letech 2002–2004 významně ovlivňována genotypy, průběhem počasí ve vegetačních obdobích i interakcemi obou těchto faktorů.

Práce byla podpořena projekty: MŠMT VC IM0570 a GA ČR 525/05/0781.

1. Newman R. K., Newman C. W., Graham H.: Cereal Foods World 34, 883 (1989).
2. McIntosh G. H., Le Leu R. K., Royle P. J., Young G. P.: J. Gastroenterol. Hepatol. 11, 113 (1998).
3. Dervilly G., Leclercq C., Zimmermann D., Roue C., Thibault J. F., Saulnier L.: Carbohydr. Polym. 47, 143 (2002).
4. Havlová P.: Kvasný Prům. 47, 174 (2001).
5. Douglas S.: Food Chem. 7, 139 (1981).

## $\beta$ -GLUKANY JAKO PREBIOTIKUM – SIMULACE RŮSTU PROBIOTICKÝCH BAKTERIÍ

VLADIMÍR ERBAN<sup>a</sup>, ELIŠKA KOMÁRKOVÁ<sup>a</sup>  
a JANA ČOPÍKOVÁ<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Výzkumný ústav potravinářský Praha, Radiová 7, 102 31 Praha 10, <sup>b</sup> Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6  
v.erban@vupp.cz

Aby bylo možné polysacharidy charakterizovat prebiotika, musí splňovat některá kritéria. Kromě nestravitelnosti v lidském zažívacím traktu, musí zejména podporovat růst střevních bakterií prospěšných lidskému zdraví – označovaných jako probiotika.  $\beta$ -Glukany obecně splňují tyto požadavky, ale jednotlivé probiotické kmeny se liší schopností je využívat.

Houby rodu *Pleurotus* obsahují ve svých plodnicích významné množství  $\beta$ -glukanů. Také jejich biologická aktivita je různá. Je to patrné zejména na změně růstové rychlosti jednotlivých kmenů v závislosti na přidávku extraktu do media. Testovali jsme vodný a alkalický extrakt *Pleurotus eryngii*, které se liší obsahem  $\beta$ -glukanů i proteinů. Jako testovací probiotika byla použita sada obsahující 4 kmeny *Lactobacillus*, 3 kmeny *Bifidobacterium* a 2 kmeny *Enterococcus*. Některé z testovaných kmenů *Lactobacillus* byly více stimulovány vodným extraktem a jiné alkalickým extraktem, stejně jako testované kmeny *Bifidobacterium*. Ačkoliv se růstové rychlosti měnily, z hlediska maximální dosažené koncentrace biomasy byly nejvyšší hodnoty dosaženy s vodným extraktem. Testované kmeny *Enterococcus* byly z hlediska růstových rychlostí více stimulovány alkalickým extraktem, ale z hlediska maximálního nárůstu jim více vyhovoval vodný extrakt. Podobný vliv lze pozorovat i u extraktů obsahující  $\beta$ -glukany cererálního původu. Kromě stimulace růstu způsobují  $\beta$ -glukany také zvýšenou odolnost určitých kmenů vůči žlučovým kyselinám, se kterými se probiotika dostávají do kontaktu při průchodu tenkým střevem a jsou ve většině případů významně inhibovány. Při současné kultivaci se žlučovými kyselinami a  $\beta$ -glukany se ochranný vliv polysacharidů projevil zachováním schopnosti růstu a vyšší koncentrací biomasy oproti kontrole bez  $\beta$ -glukanů.

Tato práce vznikla za podpory grantu GA ČR č. 525/05/0273.

## POSTUPNÁ IZOLACE FRAKCIÍ OBSAHUJÍCÍCH $\beta$ -GLUKANY Z *PLEUROTUS OSTREATUS*

VLADIMÍR ERBAN<sup>a</sup>, ELIŠKA KOMÁRKOVÁ<sup>a</sup>,  
JANA ČOPIKOVÁ<sup>b</sup>, ANDRIY SYNYTSYA<sup>b</sup>  
a PETR MOLÍK<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Výzkumný ústav potravinářský Praha, Radiová 7, 102 31 Praha 10, <sup>b</sup> Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6  
v.erban@vupp.cz

Izolace jednotlivých frakcí obsahujících  $\beta$ -glukany byla realizována z rozmixované biomasy čerstvých hub *Pleurotus ostreatus*, tak aby bylo možné získat frakce  $\beta$ -glukanů s různou vazbou na mycelium. Houbová drť byla postupně extrahována studeným fyziologickým roztokem, horkým fyziologickým roztokem a roztokem hydroxidu (v chladu). Jednotlivé výluhy byly shromažďovány a po dalších purifikačních postupech lyofilizovány. V jednotlivých frakcích byly sledovány obsahy  $\beta$ -glukanů a proteinů. Dále byla zjišťována rozpustnost jednotlivých izolátů a distribuce velikosti molekul. Poměr obsahu  $\beta$ -glukanů a proteinů byl též orientačně potvrzen pomocí infračervené spektroskopie. Z výsledků vyplývá, že je velmi těžké u vzorků z *Pleurotus ostreatus* oddělit proteiny od  $\beta$ -glukanů. Jednotlivé frakce obsahují různé poměry těchto látek a také velikost molekul je různá. Nejvíce  $\beta$ -glukanů obsahovaly frakce získané alkalickou extrakcí a následně vysrážené při okyselení extraktu na pH 8. Nicméně i tato frakce obsahovala vedle 45 %  $\beta$ -glukanů také 30 % proteinů. Dalším zajímavým izolátem je frakce tvořící gelovitý roztok, která byla získána vyluhováním ve fyziologickém roztoku v autoklávu. Tento izolát obsahuje proteiny i  $\beta$ -glukany, obě složky cca 30 % obsahu. Testování rozpustnosti izolátů v závislosti na pH také ukázalo rozdíly mezi jednotlivými frakcemi. Většina izolátů byla dobře rozpustná v alkalickém prostředí a v neutrálním tvořila viditelnou sraženinu, která se ovšem s dalším okyselením na hodnotu pod pH 1–2 rozpouštěla. Nerozpustnost frakcí v oblasti fyziologických pH značně limituje možnost testování těchto izolátů jako prebiotik, protože je omezena jednak možnost degradace  $\beta$ -glukanů a jednak fotometrická detekce růstu.

Tato práce vznikla za podpory grantu GA ČR č. 525/05/0273.

## ŠTÚDIUM VARIABILITY OBSAHU $\beta$ -D-GLUKÁNU V ZRNÁCH OBILNÍN A PSEUDOOBILNÍN

MICHAELA HAVRLETOVÁ<sup>a</sup>, ALENA  
GAJDOŠOVÁ<sup>b</sup> a JÁN KRAIC<sup>a,c</sup>

<sup>a</sup> Ústav aplikovanej genetiky a šľachtenia rastlín, Slovenské centrum poľnohospodárskeho výskum – Výskumný ústav rastlinnej výroby v Piešťanoch, Bratislavská 122, 921 68 Piešťany, <sup>b</sup> Oddelenie výživy a hodnotenia potravín, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie Slovenskej technickej univerzity v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, <sup>c</sup> Fakulta prírodných vied Univerzity sv. Cyrila a Metoda v Trnave, Námestie J. Herdu 2, 917 01 Trnava, Slovenská republika  
havrletova@vurv.sk

$\beta$ -D-Glukán, hlavná zložka bunkových stien obilnín<sup>1</sup>, je lineárny, vo vode čiastočne rozpustný, polysacharid. Tvoria ho glukózové jednotky pospájané  $\beta$ -(1→3) a  $\beta$ -(1→4) glykozidickými väzbami<sup>2</sup>. Zvyčajne sa nachádza vo vnútornej aleurónovej a subaleurónovej vrstve bunkových stien endospermu. Obilniny využívajú  $\beta$ -D-glukán ako štruktúrnú zložku stien rastúcich buniek a tiež ako zásobný materiál, hydrolyzovaný počas klíčenia, poskytujúci extra zdroj uhlíka v skorých štádiách klíčenia. Je dokázané, že obilninový  $\beta$ -D-glukán má široké pole pôsobnosti v ľudskom i živočíšnom organizme. Predovšetkým ten izolovaný z ovsu má mimoriadnu schopnosť v organizme zadržiavať vodu a tvoriť gély, z čoho vyplývajú jeho zdraviu prospešné fyziologické účinky<sup>3</sup>: pomáha znižovať hladiny celkového a LDL cholesterolu v krvi, spôsobuje pokles postprandiálnej glykémie i obsahu inzulínu, je veľmi účinným aktivátorom imunitných procesov a má významnú úlohu vo fyziológii čreva. Známe je aj široké spektrum jeho využitia v potravinovom priemysle. Dostupná literatúra uvádza jeho využitie na báze cereálnej vlákniny vo forme cereálnych raňajok<sup>4</sup>, keksov<sup>5</sup>, cereálnej kaše<sup>6</sup>, cereálnych omáčok<sup>7</sup>, ovocných štiav a nápojov<sup>8</sup> či cereálnych polievok<sup>9</sup> na zvýšenie nutričnej a senzorickej hodnoty; tiež v pekárskom priemysle pri výrobe rôznych druhov chleba, suchárov a cestovín<sup>10</sup>, ako aj v mliekárenstve pri výrobe jogurtov i na výrobu nízkotučných syrov Cheddar s  $\beta$ -D-glukánovou hydrokoloidnou zložkou Nutrim (ako náhrada tuku)<sup>11</sup>, alebo pri výrobe nízkotučných syrov v slanom náleve.

Cieľom našej práce bolo s použitím enzýmového setu K-BGLU 04/06 (Megazyme, Ireland) analyzovať obsah  $\beta$ -D-glukánu v genetických zdrojoch jačmeňa siateho (*Hordeum vulgare* L.), ovsu siateho (*Avena sativa* L.), pšenice jarnej (*Triticum aestivum* L.), pohánky jedlej (*Fagopyrum esculentum* Moench.), prosa siateho (*Panicum miliaceum* L.) a láskavca (*Amaranthus* sp. L.) a na základe získaných parametrov porovnať ich medzi-druhovou a medziodrodovou variabilitu a možnosti využitia v potravinovom priemysle.

Táto práca vznikla za podpory Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky (projekt číslo 2003 SP27/028OE02/028OE02).

#### LITERATÚRA

1. Trogh I., Courtin C. M., Andersson A. A. M., Åman P., Sørensen J. F., Delcour J. A.: *J. Cereal Sci.* 40, 257 (2004).
2. Rimsten L., Stenberg T., Andersson R., Andersson A., Åman P.: *Cereal Chem.* 80, 485 (2003).
3. Mälkki Y., Virtanen E.: *Lebensm.-Wiss. Technol.* 34, 337 (2001).
4. Fernandez-Garcia E., McGregor J. U.: *Eur. Food Res. Tech.* 204, 433 (1997).
5. Sudha M. L., Vetrmani R., Leelavathi K.: *Food Chem.*, v tisku.
6. Whalen P. L., Maxwell D. L.: US-Patent No. 5, 723,162, (1996).
7. Müller R., Bohatiel J., Blortz D., Frank B.: US-Patent No. 5,407,690, (1995).
8. Kovacs J.: US-Patent, No. 4,886, 665, (1989).
9. Gormley T. R., Morrissey A.: *Irish J. Agr. Food Res.* 32, 205 (1999).
10. Plaami S., Kumpulainen J.: *J. Compos. Anal.* 7, 134 (1994).
11. Konuklar G., Inglett G. E., Warner K.: *Food Hydrocolloid.* 18, 535 (2004).

#### BIOLOGICKY AKTÍVNE POLYSACHARIDY Z LIEČIVÝCH BYLÍN A INÝCH RASTLÍN

Plenárni prednáška

#### ZDENKA HROMÁDKOVÁ

Chemický ústav Slovenskej akadémie vied, Dúbravská cesta 9, 845 38 Bratislava, Slovensko  
chemhrom@savba.sk

Za posledné desaťročie enormne vzrástol záujem o polysacharidy a glykokonjugáty vzhľadom na ich základnú úlohu v biologických funkciách, ako aj ich obrovského biotechnologického potenciálu. Tradične sa tieto biopolyméry používajú v rôznych odvetviach priemyslu ako napr. v potravinárstve, kde nachádzajú veľmi rozmanité využitie ako gélujúce, zahusťujúce, emulgačné, stabilizujúce a peniace aditíva. V súčasnosti sa dostávajú do farmaceutických, biomedicínskych a iných sektorov ochrany zdravia a výživy ako pomocné látky na dávkovanie liekových foriem, ale aj ako biologicky účinné látky podporujúce imunitný systém s protizápalovými, antioxidantnými, antitusickými a inými biologickými aktivitami. Je to dané ich širokou štruktúrnou diversitou a s tým spojenými fyzikálno-chemickými vlastnosťami a možnosťou ich zámernej chemickej, biochemickej či fyzikálnej modifikácie, ktoré môžu niektoré aktivity zintenzívniť, alebo vyvolať. Ich výhodou je, že sa jedná o netoxické látky, ktoré sú biodegradabilné a ich zdrojmi sú rastlinné suroviny.

Z rôznych liečivých rastlín (*Aloe vera*, *Althaea officinalis*, *Arctium lappa*, *Mahonia aquifolium*, *Malva mauritiana*, *Salvia officinalis* a *Verbascum thapsiforme*) sa extrahovali zmesi polysacharidov, z ktorých sa izolovali a štruktúrne definovali polysacharidové komponenty. Zmesi ako i purifikované komponenty mali mitogénnu a komitogénnu aktivitu<sup>1,2</sup>. Ich antitusická účinnosť<sup>3</sup> bola vyššia v porovnaní k syntetickým nenarkotickým preparátom ako je napríklad dropropizin. Expektoračné parametre boli len minimálne redukované, pričom neboli pozorované nežiaduce vedľajšie účinky. Tieto polysacharidové preparáty možno zaradiť do skupiny prírodných produktov s antitusickým a expektoračným účinkom (saponiny, alkaloidy, flavonoidy a i.). Predstavujú nové perspektívne herbálne farmaceutiká na ovplyvňovanie kašľového reflexu.

Z pšeničných otrúb, ktoré sú vedľajším produktom pri výrobe pšeničnej múky a tvoria významnú potravinovú vlákninu, sa za miernych extrakčných podmienok izolovali polysacharidové preparáty s vysokým obsahom fenolických látok, najmä kyseliny ferulovej a jej derivátov. Hlavnú polysacharidovú zložku tvoril heteroxylán s veľmi vysokou molekulovou hmotnosťou, ktorý je predstaviteľom „potravinovej vlákniny“. Polysacharidové preparáty sa vyznačovali antioxidantnou aktivitou porovnateľnou s aktivitou komerčného potravinového antioxidantu –  $\alpha$ -tokoferolu. Na základe fyzikálno-chemických a antioxidantných vlastností uvedené preparáty možno zaradiť do skupiny potenciálnych hydrokoloidných aditív do potravinových výrobkov.

Glukurónoxylán s vysokou antioxidantnou účinnosťou sa pripravil v laboratórnom a štvrt'prevádzkovom merítke z pohánkových šupiek<sup>4</sup>, ktoré sú druhotnou surovinou pri výrobe pohánkovej múky. Použitie ultrazvuku<sup>5</sup> a rôznych extrakčných podmienok pri izolácii malo vplyv aj na antioxidantnú a immunomodulačnú aktivitu polysacharidu. Predstavuje nové pekárenské aditívum do menej kvalitných múk, nakoľko zvyšuje ich výťažnosť a mechanické vlastnosti cesta, zlepšuje senzorické vlastnosti a spomaľuje stárnutie pekárenských výrobkov.

Táto práca vznikla za podpory grantu VEGA 2/6131/06 a Slovenskej akadémie vied, projekt COST D28/0006/03.

#### LITERATÚRA

1. Ebringerová A., Kardošová A., Hromádková Z., Maloviková A., Hříbalová V.: *Int. J. Biol. Macromol.* 30, 1 (2002).
2. Ebringerová A., Kardošová A., Hromádková Z., Hříbalová V.: *Fitoterapia*, 74, 52 (2003).
3. Nosáľová G., Šútovská M., Mokry J., Kardošová A., Capek P., Khan M. T. H.: *Minerva Biotechnologica* 17, 141 (2005).
4. Hromádková Z., Ebringerová A., Hirsch J.: *Chem. Papers-Chemicke Zvesti* 59, 223 (2005).
5. Hromádková Z., Ebringerová A.: *Ultrasonic. Sonochem.* 10, 127 (2003).

## VYUŽITIE ŠKROBOVÝCH SUROVÍN NA PRODUKCIU PALIVOVÉHO ETANOLU

**KATARÍNA LACHKÁ a VIERA HORVÁTHOVÁ\***

*Katedra biotechnológií, Fakulta prírodných vied, Univerzita sv. Cyrila a Metoda, Námestie J. Herdu 2, 917 01 Trnava, Slovenská republika  
viera.horvathova@ucm.sk*

Škrob je dôležitý materiál pre škrobárenský priemysel a fermentačné technológie. Poľnohospodárske plodiny kukurica, pšenica, raž a iné obilniny obsahujú okolo 60 až 75 % (w/w) škrobu. Po hydrolýze na glukózu sú vhodnými surovinami pre fermentačné procesy<sup>1</sup>.

Produkcija etanolu vo svete vzrastá aj vďaka jeho využitiu v dopravnom sektore. Využitie etanolu ako prímies do automobilových benzínov a motorovej nafty prispieva k zvýšeniu obnoviteľných zdrojov v palivách<sup>2</sup>. Aj keď je najvhodnejšou plodinou pre produkciu palivového etanolu kukurica, liehovárnícky potenciál Slovenska sa orientuje na spracovávanie aj iných surovín, ktoré sú v našom podnebnom pásme dostupné<sup>3</sup>.

Cieľom práce bolo uskutočniť etanolovú fermentáciu cereálnych substrátov kvasinkami *Saccharomyces cerevisiae* CCY-11-3. Použitými substrátmi boli pšenica (Torysa, Veldava, MS1234) a tritikale (PSTC16, Radko a MS1628) upravené zošrotovaním. Substráty boli najskôr charakterizované stanovením obsahu škrobu (66–72 %), amylozy (29–34 %) a sledovaním morfológie škrobových zrn. Mnohé štúdie dokazujú, že väčšie škrobové zrná sú prístupnejšie chemickej a enzýmovej hydrolýze, čím sú pre aplikácie v potravinárskom priemysle významnejšie<sup>4</sup>.

Keďže sú tieto substráty priamo kvasinkami *Saccharomyces cerevisiae* neskvastiteľné, pred fermentáciou je ich potrebné upraviť enzýmovou hydrolýzou. Najvýhodnejšie je používať komerčne vyrábané enzýmové preparáty, pretože sú pripravované s ohľadom na špecifikácie konkrétnej technológie<sup>5</sup>.

Fermentáciou testovaných cereálnych substrátov sme zistili, že najvyššia konverzia glukózy na etanol bola dosiahnutá pri fermentácii hydrolyzáta tritikale PSTC16 (tritikale PSTC16 obsahoval najvyššie percento škrobu a amylopektínu) a tritikale MS1628 (disponoval najväčšími škrobovými zrnami). Ďalším poznatkom je potreba miešania najmä pri hydrolyzátoch s vyššou viskozitou. Na základe dosiahnutých výsledkov konštatujeme, že v rámci uskutočnených experimentov sa ako najvhodnejší proces javí simultánna sacharifikácia a fermentácia. Testované cereálne substráty sú vhodné na produkciu palivového etanolu a jeho výťažnosť je možné zvýšiť šľachtiteľskými úpravami zameranými na zvýšenie obsahu škrobnatých látok zrna.

### LITERATÚRA

1. Kunamneni A., Singh S.: *Biochem. Eng. J.* 27, 179 (2005).
2. Kim S., Dale B. E.: *Biomass Bioenergy* 29, 426

(2005).

3. Horváthová V., Lachká K., Čiefová M.: *Nova biotechnologica V-I*, 145, (2005).
4. Morelon X., Battu S., Salesse C., Grimaund G. B., Cledat D., Cardot P. J. P.: *J. Chromatography, A* 1093, 147, (2005).
5. Horváthová V., Šturdík E., Janeček Š.: *Bulletin potravinárskeho výskumu* 40, 1 (2001).

## BAZIDIOMYCETY, ZDROJ PERSPEKTIVNÍCH LÉČIVÝCH LÁTEK

**IVAN JABLONSKÝ a RUDOLF RYZNER**

*i.jablonsky@seznam.cz*

Plakátové sdělení uvádí přehled základních skupin účinných léčivých látek v bazidiomycetách, které obsahují celou řadu farmakologicko aktivních látek s širokým spektrem účinků proti bakteriím, virům a různým alergiím. Dále tyto látky vykazují účinky protizánětlivé, imunomodulační, hepatoprotektivní a antiatherogenní.

Jedno onemocnění (např. HIV) je možno léčit různými látkami izolovanými z hub (glukany, triterpeny). Na druhé straně polysacharidy (glukany) izolované z hub působí nejen jako imunomodulátory, ale také proti virovým chorobám a při aktivní léčbě některých nádorových onemocnění. Stejně široké spektrum účinnosti vykazují triterpeny, které mají protizánětlivé, antioxidační, antivirové a cytostatické účinky. Statiny (lovastatin izolovaný z plodnic hlívy) vykazují hypocholesteromické účinky. Po aplikaci glykanů byly zaznamenány u pacientů hypoglykemické účinky.

*Tato práce vznikla za podpory grantové agentury GAČR, č. 525/05/0273.*

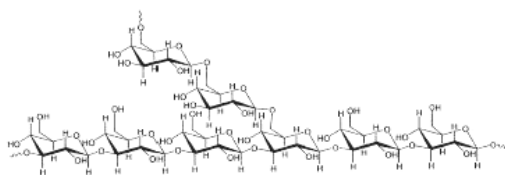
## ANTIOXIDAČNÉ, ANTIMUTAGÉNNE A ANTIGENOTOXICKÉ VLASTNOSTI POLY- SACHARIDOV BUNKOVÝCH STIEN KVASINIEK

*Plenární přednáška*

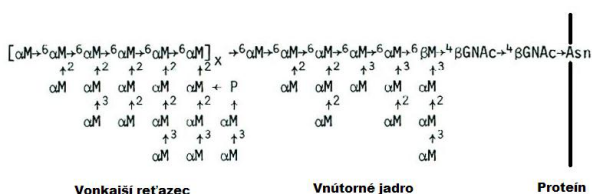
**GRIGORIJ KOGAN**

*Chemický ústav Slovenskej akadémie vied, Dúbravská cesta 9, 845 38 Bratislava, Slovensko  
grigorij.kogan@savba.sk*

Polysacharidy predstavujú hlavný podiel suchej hmoty bunkových stien kvasiniek. Hlavnou zložkou (váhovo až 75 %) je (1→3,1→6)-β-D-glukán **I**, ktorý spolu s chitínom (1 až 2 %) tvorí skelet bunkovej steny, zodpovedá za jej stabilitu a určuje morfológický tvar kvasinky. Druhou, amorfnou zložkou sú α-D-manány vyskytujúce sa vo väzbe na proteín, teda tvoriace manoproteíny **II**. Tieto sú lokalizované na povrchu kvasinky, kde hrajú úlohu



## I



## II (M – manopyranozylová jednotka)

imunologických determinantov kvasiniek, determinujú ich interakciu s vonkajším prostredím, inými bunkami, určujú sérologickú špecifitu, alebo sa vyskytujú v celulárnom matrixe ako amorfná výplň.

U fungálnych  $\beta$ -D-glukánov bola popísaná imunomodulačná, protiinfekčná a protinádorová aktivita<sup>1,2</sup> a sú príkladom tzv. modifikátorov biologickej odpovede (Biological Response Modifiers)<sup>3</sup>. Nami pripravené vodorozpusťné deriváty  $\beta$ -D-glukánu izolovaného z bunkovej steny pekárskeho kvasníc *Saccharomyces cerevisiae* vykazovali významný antioxidačný efekt porovnateľný s pôsobením známych antioxidantov v modeli inhibície peroxidácie lipidov<sup>4,5</sup>. Schopnosť zachytávať voľné radikály sa potvrdila i bezprostredne pomocou EPR spektroskopie<sup>6</sup>. V súlade s preukázanou antioxidačnou aktivitou, karboxymetylovaný  $\beta$ -D-glukán inhiboval hladinu oxidatívnych markerov (plazmové karbonyly) v modeli experimentálnej adjuvantnej artritídy<sup>6</sup>. Keďže voľné radikály sa podieľajú na vzniku a vývoji mnohých neoplastických ochorení, vyskúšali sme aplikáciu karboxymetyl a sulfoetyl derivátov  $\beta$ -D-glukánu (CMG a SEG) v myšiacich modeloch pľúcneho karcinómu Lewis a lymfosarkómu. Použitie uvedených polysacharidov najmä v kombinácii s cyklofosfamidom viedlo k značnej inhibícii rastu nádorov a výskytu metastáz. Aplikácia rozpustných derivátov  $\beta$ -D-glukánu viedla tiež k zvýšeniu hladiny inhibítorov cysteinových proteáz stefínu A a cysstatínu C v nádorovom tkanive ako i k zvýšeniu koncentrácie katepsínov B, L a D (cit.<sup>7,8</sup>). Pri štúdiu DNA protektívnej aktivity CMG a SEG sme pozorovali významné zníženie počtu zlomov DNA indukovaných hydroxylovými radikálmi, ako i zníženie molekúl DNA poškodených v dôsledku oxidácie purínových báz pod vplyvom fotosenzitizovaných reagentov<sup>9</sup>. CMG preukázal schopnosť silne zvyšovať

množstvo tumor necrosis faktoru TNF- $\alpha$  vylúčeného myšiami makrofágmi<sup>10</sup> a SEG bol schopný potláčať revitalizáciu nádorových buniek po ukončení cytostatickej liečby<sup>11</sup>. Tieto vlastnosti derivátov kvasinkového  $\beta$ -D-glukánu naznačujú potenciálnu možnosť ich využitia v terapii rakoviny a iných ochorení spojenných s oxidačným poškodením organizmu.

Inou študovanou látkou bol glukomanán pripravený z bunkových stien priemyselného kvasinkového kmeňa *Candida utilis*. Tento kvasinkový polysacharid javil veľmi význačnú antimutagénnu a antigenotoxickú aktivitu proti rozličným cytostatikom a chemickým mutagénom aplikovaným na kvasinkové, bakteriálne a cicavčie bunky, ako i na riasy a rastliny. Mal protektívny účinok proti oxidačnému poškodeniu DNA a pri kombinovanej aplikácii s cytostatikom VM 26 potencioval jeho protirakovinový efekt<sup>12,13</sup>. Uvedené výsledky svedčia o veľkom potenciále kvasinkových polysacharidov ako antioxidantov, antimutagénov a proti-rakovinových profilaktických a terapeutických agentov.

*Tato práca vznikla za podpory grantu VEGA 2/4143/2662808. Slovenskej akadémie vied a MŠ SR ako i Centra Excelentnosti Slovenskej akadémie vied CEDEBIPO.*

## LITERATURA

- Williams D. L.: *Mediators Inflamm.* 6, 247 (1997).
- Kogan G., v knihe: *Studies in Natural Products Chemistry*, Vol. 23 Bioactive Natural Products (Part D), str. 107. Elsevier 2000.
- Bohn J. A., BeMiller J.: *Carbohydr. Polym.* 28, 3 (1995).
- Babincová M., Machová E., Kogan G.: *Z. Naturforsch.* 54c, 1084 (1999).
- Babincová M., Bačová Z., Machová E., Kogan G.: *J. Med. Food* 5, 79 (2002).
- Kogan G., Staško A., Bauerová K., Polovka M., Šoltés L., Brezová V., Navarová J., Mihalová D.: *Carbohydr. Polym.* 61, 18 (2005).
- Kogan G., Šandula J., Korolenko T. A., Falameeva O. V., Poteryaeva O. N., Zhanaeva S. Ya., Levina O. A., Filatova T. G., Kaledin V. I.: *Int. Immunopharmacol.* 2, 775 (2002).
- Khalikova T. A., Zhanaeva S. Ya., Korolenko T. A., Kaledin V. I., Kogan G.: *Cancer Lett.* 223, 77 (2005).
- Slameňová D., Lábj J., Križková L., Kogan G., Šandula J., Bresgen N., Eckl P.: *Cancer Lett.* 198, 153 (2003).
- Majtán J., Kogan G., Kováčová E., Bíliková K., Šimúth J.: *Z. Naturforsch.* 60c, 921 (2005).
- Miadoková E., Svidová S., Vlčková V., Kogan G., Rauko P.: *J. Integr. Cancer Med.* 2, 173 (2004).
- Vlčková V., Dúhová V., Svidová S., Farkašová A., Kamasová S., Vlček D., Kogan G., Rauko P., Miadoková E.: *Cell Biol. Toxicol.* 6, 325 (2004).
- Miadoková E., Svidová S., Vlčková V., Dúhová V., Naďová S., Rauko P., Kogan G.: *Toxicol. in Vitro* 20, 649 (2006).

## CHARAKTERIZACE STRUKTURY POLY-SACHARIDŮ IZOLOVANÝCH Z *Pleurotus* sp. A *Agaricus blazei*

**KATEŘINA MÍČKOVÁ<sup>a</sup>, ANDRIY SYNYTSYA<sup>a</sup>, JANA ČOPIKOVÁ<sup>a</sup>, JANA ČERNÁ<sup>a</sup>, MARTIN MARYŠKA<sup>b</sup>, MANUEL ANTONIO COIMBRA<sup>c</sup> a JIŘÍ SPĚVÁČEK<sup>d</sup>**

<sup>a</sup> Ústav chemie a technologie sacharidů, <sup>b</sup> Ústav skla a keramiky, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6, <sup>c</sup> Departamento de Química, Universidade de Aveiro, 3810-193 Aveiro, Portugal, <sup>d</sup> Ústav makromolekulární chemie, Akademie Věd ČR, Heyrovského nám. 2, 162 06 Praha 6  
katerina.mickova@vscht.cz

Konzumace hub jako léčivých prostředků má svůj původ ve východní Asii, kde jimi lidé po staletí léčili rozmanité neduhy od nachlazení až po rakovinu. V posledních třiceti letech se po celém světě začaly vědecké skupiny intenzivně zabývat léčivými účinky hub. Bylo zjištěno, že polysacharidy, konkrétně  $\beta$ -glukany, mají schopnost posilovat imunitní systém a působit proti civilizačním chorobám i rakovině. Houby rodu *Agaricus* jsou u nás známy jako žampiony. Jednou z nejnověji objevených léčivých hub je *Agaricus brasiliensis* (*blazei*), který je díky svému mandlovému aroma nazýván žampionem mandlovým. V osmdesátých letech dvacátého století byly prokázány imunostimulační a protinádorové účinky  $\beta$ -glukanů z houby *A. brasiliensis*. Kvůli značné adaptabilitě je rod *Pleurotus* preferován pěstiteli v mnoha zemích. Mnoho druhů rodu *Pleurotus* vykazuje farmakologické účinky, např. *Pl. florida*, *Pl. tuber-regium*, *Pl. pulmonarius*, stejně jako *Pl. ostreatus* a *Pl. eryngii*, které byly sledovány v rámci této práce.

Cílem předkládané práce byla charakterizace glukanů a chitin-glukanového komplexu různých druhů *Pleurotus* sp. a *Agaricus blazei*. K dokumentaci tkáně hub byla použita polarizační a elektronová mikroskopie. Obsah  $\beta$ -glukanů a celkové dietní vlákniny byl stanoven enzymaticky, v případě  $\beta$ -glukanů to byla metoda Mushroom and Yeast Beta-glucan Assay Procedure K-YBGL 10/2005 (Megazyme, Irsko), pro stanovení vlákniny byla použita metoda AOAC 991.43 (Megazyme, Irsko). Na základě tohoto enzymového stanovení  $\beta$ -glukanů v čerstvých houbách je možno konstatovat, že třeň má vyšší obsah  $\beta$ -glukanů než klobouk. To je příznivé zjištění, protože zejména klobouky hub se používají ke kulinářské úpravě a třené mohou být zdrojem zdraví prospěšných polysacharidů.

Pro izolaci rozpustných a nerozpustných polysacharidů byla použita modifikovaná metoda dle Freimunda (Freimund a spol. 2003). Pro studium struktury izolovaných polysacharidů byla použita FT-IR a NMR spektroskopie. Molekulová hmotnost jednotlivých polysacharidových frakcí byla stanovena pomocí gelové chromatografie. Plynová chromatografie potvrdila, že mezi přítomnými

monosacharidy je nejhojněji zastoupena glukosa pocházející z  $\beta$ -glukanů, které byly podrobeny totální kyselé hydrolýze.

Tato práce vznikla za podpory GA ČR 525/05/0273.

## NOVÉ MOŽNOSTI VYUŽITIA ŠKROBOV S VYSOKÝM OBSAHOM AMYLÓZY

**DANIELA MIKULÍKOVÁ<sup>a</sup> a JÁN KRAIC<sup>a,b</sup>**

<sup>a</sup> Výskumný ústav rastlinnej výroby SCPV, Bratislavská 122, 921 68 Piešťany, <sup>b</sup> Univerzita sv. Cyrila a Metoda, Námestie J. Herdu, 917 01 Trnava, Slovenská republika  
mikulikova@yurv.sk

Škrob je najvýznamnejším rastlinným polysacharidom. Nachádza sa v semenách a hľuzách rastlín ako zásobná látka pre získavanie chemickej energie. Pozostáva z reťazcov dvoch D-glukózových homopolymérov: nerozvetvenej amyulózy a bohato rozvetveného amylopektínu. Väčšina škrobov obsahuje 20–30 % amyulózy a 70–80 % amylopektínu.

Na biosyntéze škrobu sa podieľa 14 rôznych enzýmov. Tri z nich možno považovať za kľúčové: ADP-glukózo-pyrofosforyláza (AGP), syntetáza škrobu (SS) a vetviaci enzým (BE).

Nachádzajú sa vo viacerých izoformách s rozdielnou enzýmovou aktivitou a fyzikálno-chemickými vlastnosťami. Sú kódované rozdielnymi génmi a líšia sa primárnou štruktúrou, molekulovou hmotnosťou, hodnotou  $K_m$ , citlivosťou voči aktivátorom a inhibítorm, teplotným optiomom a podobne. V zastúpení podielu amyulózy a amylopektínu majú rozhodujúcu úlohu dva špecifické izoenzýmy: na granuly viazaná syntetáza škrobu (GBSSI) a vetviaci izoenzým BEIIb. Mutáciou, ktorá spôsobí stratu izoformy GBSSI, možno v škrobe znížiť prípadne celkom eliminovať obsah amyulózy. Mutáciou, ktorá spôsobuje stratu BEIIb, možno v škrobe podiel amyulózy zvýšiť.

Od podielu amyulózy a amylopektínu závisia fyzikálno-chemické vlastnosti (viskozita, napučovanie, želatinizácia, retrogradácia, schopnosť hydrolýzy), štruktúra škrobových zŕn aj použiteľnosť škrobu. Škroby s vyšším zastúpením amylopektínu sú vhodné na výrobu papiera, adhezív, mrazených potravinových výrobkov, cestovín a piva. Vyššie zastúpenie amyulózy predurčuje škrob na výrobu fotografických filmov, pre cukrárenstvo, ale najmä na výrobu funkčných potravín.

Plodiny so zvýšeným obsahom amyulózy majú schopnosť po tepelnom spracovaní retrogradovať na rezistentný škrob RS<sub>3</sub>. Tento zvyšuje nutričnú hodnotu potravín a má veľký význam pre zdravie človeka, najmä v prevencii proti kardiovaskulárnym a onkologickým chorobám. Zaraďuje sa medzi prebiotiká novej generácie potravinovej vlákniny.

Škriningom 248 odrôd 18 rastlinných druhov (obilniny, pseudoobilniny a strukoviny) a 10 výrobkov

z obchodnej siete sme vybrali najlepšie prírodné zdroje tejto zdraviu prospešnej zložky. Sú to: tritikale (odroda Kendo, Pinokio, Presto a Tricolor), raž (Dankowskie Nove a Esprit), pšenica (Boka), pohánka (Pyra), cícer (Alfa), fazuľa (Fabia a Ultima), hrach (Elkan, Gloriosa a Záznak z Kelvedonu), šošovica (Renka) a bôb (Omar). Prekvapivé bolo zistenie, že už 120 g konzumného pšenično-ražného chleba pokrýva doporučenú dennú dávku rezistentného škrobu (3,2 g). Výsledky prehĺbili poznatky o funkčných zložkách plodín a poukazujú na reálnu možnosť ich využitia ako vhodného prirodzeného zdroja RS pre výrobu funkčných potravín.

#### LITERATÚRA

1. Mikulíková D., Kraic J.: *J. Food Nutr. Res.* 45, 69 (2006).
2. Mikulíková D., Čičová I., Antalíková G., Kraic J.: *Czech J. Genetics Plant Breeding* 41, 96 (2005).
3. Mikulíková D., Kraic J.: *Lekársky obzor* 54, 167 (2005).
4. Mikulíková D., Mendel L., Kraic J.: *Biologické listy* 70, 37 (2005).
5. Mikulíková D., Kraic J.: *Bulletin potravinárskeho výskumu* 43, 157 (2004).

#### ALKYLDERIVÁTY HYALURONANU

##### **PETRA MLČOCHOVÁ, SLAVOMÍR BYSTRICKÝ a MARTIN KRČMÁŘ**

CPN spol. s r.o., 561 02 Dolní Dobrouč 401  
mlcochova@contipro.cz

Hyaluronan je glykosaminoglykan, ve kterém se opakují disacharidové jednotky vázané  $\beta(1\rightarrow3)$  vazbou a tvořené *N*-acetylglukosaminem spojeným s glukuronovou kyselinou  $\beta(1\rightarrow4)$  vazbou. Hyaluronan interaguje s buňkami přes specifické receptory (CD44, RHAMM, LYVE-1) a účastní se kontroly hydratace tkání a transportu vody. Ovlivňuje také biologické procesy jako jsou záněty a nádorové metastázy<sup>1,2</sup>. Tyto jednotky poskytují k modifikaci skupiny hydroxylové a karboxylové. Nejčastěji jsou alkyly vázány na karboxylovou skupinu hyaluronanu esterovou vazbou (HYAFF<sup>0</sup> materiály), čímž dochází ke ztrátě polyelektrolytického charakteru polymeru, a naopak zvýšení mechanické a chemické odolnosti. Při zachování náboje hyaluronanu byly připraveny alkyletery reakcí s *n*-alkanoyl halidem<sup>3</sup> a karbamáty reakcí s alkyლისokyanátem<sup>4</sup>.

Alkylykarbamáty jsme připravili reakcí hyaluronanu s butyl-, hexyl-, oktyl-, decyl- a dodecylaminem v přítomnosti aktivačních činidel (CNBr, CDAP). Bylo experimentálně prokázáno, že s ohledem na stupeň substituce a délku alkylového řetězce se hyaluronan stává hydrofobnějším a enzymaticky pomaleji degradovatelným.

#### LITERATURA

1. Gouin S., Yan C., Yang Y., Winnik F. M.: *Polymer Preprints* 45(2), 251 (2004).
2. Asari A., v knize: *Chemistry and Biology of Hyaluronan*, Chap. 21, s. 457. Elsevier 2004.
3. Nobuhiko Y., Toru O., Takeshi N.: *n*-Alkanoylated hyaluronic acid or its salt, and its production method. JP 2004123785, 22 April 2004.
4. Chen J-H., Tsai B-H., Chang H-T., Chen M-L., Chen Y-H., Jan S-H., Liu M-J. (2005): Hyaluronic acid derivative with urethane linkage. GB 2408741, 8 June 2005.

#### **$\beta$ -GLUKAN, HISTORIE A SOUČASNOST**

*Plenární přednáška*

##### **MIROSLAV NOVÁK**

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6  
novaks@vscht.cz

Po řadu let přitahují pozornost výzkumných pracovníků i lékařů modifikátory biologické odpovědi (biological response modifiers, BRMs), neboť jejich interakce s makroorganismem přináší významné, především pozitivní, efekty. Modifikátory biologické odpovědi se podle mechanismu účinku obvykle dělí na imunomodulátory a cytokiny. Imunomodulátorů je známa celá řada a je možné je zhruba rozdělit do několika skupin<sup>1,2</sup>:

1. intaktní mikrobi a složky mikrobiálních buněk (např. BCG, LPS, MDP, fungální polysacharidy, polynukleotidy, bestatin);
2. přirozené složky normálního imunitního systému (např. thymové hormony, lymfokiny, monokiny);
3. syntetické látky (např. levamisol, isoprinosin, diethylthiokarbamat).

Mezi mnoha dosud známými a vyzkoušenými imunomodulátory první skupiny zaujímají významné místo polysacharidy izolované z různých rostlinných druhů. Takovýto polysacharidů existuje velké množství<sup>3</sup>, takže s mírnou nadsázkou lze tvrdit, že prakticky všechny polysacharidy izolované z mikrobů i vyšších rostlin mají určitý imunomodulační efekt.

Významnou skupinu těchto polysacharidů představují homopolymery glukosy s lineární molekulou obsahující (1–3)- $\beta$ -D-glykosidové vazby, případně s větvenou molekulou, obsahující navíc ještě obvykle (1–6)- $\beta$ -D-glykosidové vazby, označované stručně jako  $\beta$ -glukany

I když historie polysacharidů, včetně  $\beta$ -glukanů, jako BRMs sahá hlouběji, začátek hlavního rozvoje jejich výzkumu v tomto směru spadá do šedesátých a sedmdesátých let minulého století. Výzkum probíhal jednak v USA a Evropě, jednak v Asii, především v Japonsku. Výzkum  $\beta$ -glukanů v euro-americkém prostředí vycházel z poznatků o imunomodulačním účinku zymosanu, což je směs

polysacharidů, především  $\beta$ -glukanů a mannanů<sup>4</sup>, ze stěn *Saccharomyces cerevisiae*. Při hlubším zkoumání zymosanu byl jako účinná složka identifikován právě  $\beta$ -glukan. Hlavním protagonistou výzkumu byl Nicholas R. DiLuzio<sup>5</sup> z Tulane University v New Orleans. V Japonsku k  $\beta$ -glukanu dospěli při zkoumání účinku různých léčivých hub (shitake, maitake, reishi ad.). Podrobným zkoumáním biologických efektů těchto hub byl opět zjištěn  $\beta$ -glukan jako hlavní příčina nespecifické imunomodulace. Počátky tohoto výzkumu jsou spojeny se jménem Goro Chihary z Teikyo University v Kawasaki, který izoloval lentinan z houby shitake (*Lentinus* (nyní *Lentinula*) *edodes*)<sup>6</sup>.

V následujících letech byly  $\beta$ -glukany podrobeny řadě zkoumání, jak po stránce složení a struktury, tak po stránce biologických efektů. Je zajímavé, že i přes využití moderních metod řada prací zabývajících se strukturou  $\beta$ -glukanů a vztahem struktury a jejich biologického účinku přinášela mnohdy velice diskrepantní výsledky<sup>7</sup>. Je to dáno řadou faktorů, především značnou heterogenitou přírodních  $\beta$ -glukanů; ta pochopitelně byla a dosud stále je příčinou řady vzájemně si odporujících závěrů. V nedávné době se tento problém začal řešit přípravou semisyntetických a syntetických sond, vhodných pro exaktní imunologický výzkum<sup>8</sup>.

$\beta$ -Glukany se staly na určitou dobu téměř módní záležitostí, k čemuž jistě přispěla jejich významná vlastnost – nízká (až zanedbatelná) toxicita, což se o řadě dalších zkoumaných BRMs nedá tvrdit (LPS, MDP a dalších)<sup>9,10</sup>. Byl testován jejich účinek na nejrůznější onemocnění – infekce<sup>11</sup>, choroby z ozáření<sup>12</sup> a především na neoplastické bujení<sup>11,13</sup>. Pozůstatkem těchto pionýrských let je záplava různých potravních doplňků a „alternativních“ léčiv, nabízených obvykle chabě poučenými neodborníky. Samozřejmě, že po určité době vlna nadšení opadla a  $\beta$ -glukany byly naopak řadou odborníků vystaveny – mnohdy neoprávněně – kritice. Důvodem byly především málo definované preparáty, a nespecifický a příliš komplexní účinek. V prvotním nadšení byly přezírány i možné adversní projevy  $\beta$ -glukanů.

Zhruba v posledním decenniu dospěl výzkum  $\beta$ -glukanů na renomovaných pracovištích do stadia, kdy jsou známy základní mechanismy jejich účinku<sup>14,15</sup>, a souvislosti mezi strukturou a účinkem<sup>15–17</sup> dostávají jasně, byť občas překvapivé<sup>18</sup>, obrysy.  $\beta$ -Glukanům se tak reálně rýsují ty možnosti, které jim byly dávány do vínku při jejich debutu před téměř půlstoletím.

#### LITERATURA

1. Werner G. H., v knize: *Immunostimulants: Now and Tomorrows*, s. 3, Japan. Sci. Soc. Press 1987.
2. Franěk J., Nouza K.: *Vesmír* 67, 89 (1988).
3. Whistler R. L., Bushway A. A., Singh P. P., Nakahara W., Tokuzen R.: *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* 32, 235 (1976).
4. Pillemer L., Blum L., Lepow I. H., Wurz L., Todd E. W.: *J. Exp. Med.* 103, 1 (1955).
5. DiLuzio N. R., Hoffmann E. O., Cook J. A., Browder W., Mansell P. W. A., v knize: *Progress in Cancer Research and Therapy*, s. 475. Raven Press 1977.
6. Chihara G., Maeda Y. Y., Hamuro J., Sasaki T., Fukuoka F.: *Nature* 222, 687 (1969).
7. Duffus J. H., Levi C., Manners D. J.: *Adv. Microbiol. Physiol.* 23, 151 (1985).
8. Jamois F., Ferrières V., Guégan J.-P., Yvin J.-C., Plusquellec D., Větvicka V.: *Glycobiol.* 15, 393 (2005).
9. Prigal S. J.: *J. Allergy* 44, 176 (1969).
10. Gayle, D., Ilyin, S. E., Flynn, M. C., Plata, S. C.: *Brain Res.* 795, 77 (1998).
11. Chihara G., Maeda Y. Y., Hamuro J.: *Internat. J. Tis. React.* IV, 207 (1982).
12. Patchen M. L., MacVittie T. J.: *Internat. J. Immunopharmacol.* 7, 923 (1985).
13. DiLuzio N. R., Williams D. L.: *Rec. Res. Cancer Res.* 75, 165 (1980).
14. Linehan S. A., Martínez-Pomares L., Gordon S.: *Microb. Infect.* 2, 279 (2000).
15. Ross G. D., Větvicka V., Yan J., Xia Y., Větvicková J.: *Immunopharmacol.* 42, 61 (1999).
16. Bohn A. J., BeMiller J. N.: *Carbohydr. Polym.* 28, 3 (1995).
17. Brown G. D.: *Nat. Rev. Immunol.* 6, 33 (2006).
18. Yiannikouris A., André G., Poughon L., François J., Dussap C.-G., Jeminet G., Bertin G., Jouany J.-P.: *Biomacromol.* 7, 1147 (2006).

#### PREPARATION OF HYALURONAN OLIGOSACCHARIDES BY ACID HYDROLYSIS

ZUZANA PRISTYÁKOVÁ, MARTINA HERMANNOVÁ, and VLADIMÍR VELEBNÝ

CPN s.r.o., Dolní Dobrouč 401, 561 02 Dolní Dobrouč, Czech Republic  
pristyakova@contipro.cz

Sodium hyaluronate (SH), a widely distributed glycosaminoglycan of high molecular weight and a structural component of extracellular and intracellular matrices, has many biological and physiological activities depending on its molecular weight<sup>1</sup>. Therefore, low molecular weight SH fractions and oligosaccharides are in particular interest<sup>2,3</sup>.

Preparation of low molecular weight hyaluronan and hyaluronan oligosaccharides by acid hydrolysis was studied. SH was subjected to replicate controlled acid hydrolysis under different degradation conditions. Depolymerisation was performed by conventional heating (CH), microwave irradiation (MI) and by exposure to high temperature in an autoclave (A). Molecular weight was determined by size exclusion chromatography using a multi angle laser light scattering detector associated with a differential refractometer. SH oligosaccharides were also analysed by anion exchange high-performance liquid chromatography.

The results demonstrated enhancement of depolymeri-



sation by A in comparison to CH and MI. Remarkable differences in degradation rate between depolymerisation of SH by MI and CH were not observed. The chromatograms showed the presence of some side reaction products. Less structure changes were observed in oligosaccharides prepared by A.

In this work, we compared the possibility of SH oligosaccharide preparation by CH, MI and A. At harsh degradation conditions (long-term treatment, acidic pH, high temperature) the depolymerisation was accompanied by destruction of SH chains independently on the degradation method used. Characterization of side reaction products is under study.

#### REFERENCES

1. <http://glycoforum.gr.jp/science/hyaluronan/HA12a/HA12aE.html>
2. Sicianska W., Lerner L. E.: Carbohydr. Res. 286 (1996) 151.
3. Tawada A., Masa T., Oonuki Y., Watanabe A., Matsuzaki Y., Asari A.: Glycobiology 12, 421 (2002).

#### VLIV PŮDNÍHO DUSÍKU A FOSFORU NA SYNTÉZU ŠKROBU U BRAMBOR

OTAKAR ROP, FRANTIŠEK BUŇKA a PAVEL BŘEZINA

*Ústav potravinářského inženýrství, Fakulta technologická, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, náměstí T.G. Masaryka 275, 762 72 Zlín*

Škrob je nejvýznamnějším zdrojem sacharidů v potravě člověka. Je to zásobní polysacharid rostlin. U brambor je základní složkou sušiny hlíz a v dužnině je uložen ve formě škrobových zrn, která se nacházejí v parenchymatických buňkách<sup>1</sup>. Obsah škrobu v hlízách kolísá v našich klimatických podmínkách v rozmezí 13 až 24 % čerstvé hmoty podle odrůdy, stanoviště a ročníku<sup>2</sup>. Na obsah škrobu v bramborových hlízách mají podstatný vliv také agrochemické vlastnosti půdy<sup>3</sup>.

Cílem pokusu bylo sledovat vliv hnojení dusíkem (N) a fosforem (P) na obsah škrobu v bramborových hlízách. Jako pokusná plodina byly zvoleny velmi rané brambory odrůdy KORUNA. Pokus byl prováděn v plastových vegetačních nádobách, které byly umístěny v kryté vegetační hale. Do každé nádoby bylo navažováno 10 kg zeminy. Do pokusu byly zařazeny varianty se stupňovanými dávkami dusíku a fosforu v půdě. V případě dusíku byly zvoleny 3 varianty s přihnojením 20 mg N kg<sup>-1</sup>, 40 mg N kg<sup>-1</sup> a 80 mg N kg<sup>-1</sup> zeminy. U fosforu byly použity také 3 varianty, a to s přihnojením 100 mg P kg<sup>-1</sup>, 200 mg P kg<sup>-1</sup> a 400 mg P kg<sup>-1</sup> zeminy. Každá varianta byla 8× opakována. Dusík byl aplikován ve formě dusičnanu amonného a fosfor ve formě dihydrogenfosforečnanu vápenatého, což jsou u nás často používaná hnojiva. Bramborové hlízy byly sklizeny po 90 dnech vegetace, kdy jsou v konzumní zra-

losti<sup>4</sup>. Škrob byl stanoven metodou podle Ewerse<sup>5</sup>. Výsledky chemických analýz byly zpracovány metodou analýzy variance. Pro vyhodnocení průkaznosti rozdílů byl použit Scheffého test při 5% hladině významnosti<sup>6</sup>.

Při srovnání obsahu škrobu v bramborových hlízách získaných z jednotlivých variant byl zaznamenán statisticky průkazně nejvyšší průměrný obsah u kontrolní varianty (18,39 hm.% v čerstvé hmotě). Hnojení dusíkem i fosforem bylo ve vztahu k syntéze škrobu pro bramborovou rostlinu stresujícím faktorem. Zvyšující se obsah dusíku v půdě vedl ke statisticky průkaznému snižování obsahu škrobu v bramborových hlízách. U varianty s 20 mg N kg<sup>-1</sup> zeminy bylo naměřeno pouze 16,19 hm.% škrobu v čerstvé hmotě. Při dalším přidavku dusíku do půdy se opět statisticky významně snížil obsah škrobu, a to až v průměru na 13,55 hm.%. Další zvyšování dusíku v zemině se už potom neprojevovalo tak jednoznačným poklesem množství škrobu (obsah škrobu v čerstvé hmotě bramborových hlíz z varianty 80 mg N kg<sup>-1</sup> zeminy byl 13,12 hm.%). Stupňované dávky fosforu se projevily méně výrazně na syntézu škrobu ve srovnání s variantami, kde byl ke hnojení použit dusík. Při množství fosforu v půdě 100 mg P kg<sup>-1</sup> sice došlo k poklesu obsahu škrobu v hlízách na 16,74 hm.% v čerstvé hmotě, ale další přidavky fosforu do půdy již neměly statisticky významný vliv na další snižování množství škrobu v hlízách. Konkrétně u varianty s 200 mg P kg<sup>-1</sup> zeminy bylo v dužnině hlíz naměřeno 16,57 hm.% škrobu a u varianty s 400 mg P kg<sup>-1</sup> zeminy to bylo 16,49 hm.% škrobu v čerstvé hmotě.

#### LITERATURA

1. Purves W.: *Life: The Science of Biology*. Sinauer Associates, Sunderland 2004.
2. Vokál B., Radil B.: Rost. výroba 1, 5 (1996).
3. Lahký J.: Rost. výroba 8, 857 (1990).
4. Rop O.: *Doktorská disertační práce*. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno 1999.
5. Zbiral J.: *Analýza rostlinného materiálu (jednotné pracovní postupy)*. ÚKZÚZ, Brno 1994.
6. Unistat: *Statistical Package for Windows*. Unistat House, Londýn 2002.

#### IZOLACE VITAMINU C Z POLYSACHARIDOVÉ A PROTEINOVÉ MATRICE BRAMBOR A JEHO NÁSLEDNÉ STANOVENÍ

DANIELA KRAMÁŘOVÁ, OTAKAR ROP a IGNÁC HOZA

*Ústav potravinářského inženýrství, UTB ve Zlíně, Fakulta technologická, nám. T.G.Masaryka 275, 762 82 Zlín, rop@ft.utb.cz*

Hlízy brambor (*Solanum tuberosum*) jsou významným rostlinným produktem s vynikajícími výživovými vlastnostmi a jsou taktéž významnou průmyslovou surovinou. Jsou ceněny zejména pro svůj obsah škrobu, vitamínu C a taktéž proteinů, které jsou zcela neprávem opomíjeny.

Brambory v závislosti na odrůdě obsahují 14 až 17 % škrobu, který je složen z amylozy a amylopektinu. Škrobové granule, v nichž je škrob ukládán, mají průměr kolem 40 až 50  $\mu\text{m}$ . Tepelnou úpravou brambor a ztrátou vody se mění struktura škrobu a následně i jeho doprovodných látek ligninu, hemicelulosity, celulosity apod. Tyto změny byly pozorovány např. při smažení brambor metodou skenovací elektronové mikroskopie. Zároveň bylo potvrzeno, že tomuto napomohl olej, který rozrušil jednotlivé buňky nakrájených brambor při procesu smažení. Vzhledem k těmto poznatkům jsou prováděny různé genetické pokusy o zabudování ramno-galaktouronátů do buněčné struktury brambor, pro zlepšení technologických vlastností, kdy je nutno co nejlépe rozrušit škrobová zrna. Obsah bílkovin v hlízách se pohybuje kolem 2 %. Tento obsah samozřejmě různě kolísá v závislosti na genotypu rostliny. V současné době lze klasifikovat bílkoviny hlíznatých rostlin na následující tři skupiny: patatin neboli patatinový komplex, bramborové inhibitory proteas a ostatní bílkoviny, účastníci se převážně syntézy škrobu. Bílkoviny hlíznatých rostlin jsou z nutričního hlediska ceněny zejména pro jejich esenciální aminokyselinovou skladbu. V hlízách brambor jsou zastoupeny zejména isoleucin, leucin, lysin, methionin a cystein, fenylalanin a tyrosin, threonin, tryptofan, valin a histidin, kyselina asparagová a glutamová. Jako limitující aminokyseliny bílkovin hlíz byly stanoveny hlavně sírné aminokyseliny a to zejména methionin, značný význam má obsah lysinu.

Pro izolaci vitamínu C z této složité matrice bylo zapotřebí nejprve kvantitativně vysrážet polysacharidy, převážně škrob, a poté případně bílkoviny, které by rušily stanovení metodou HPLC-ECD. Před vlastním stanovením vitamínu C v bramborách bylo ve třetí misce důkladně rozetřeno 10 g vzorku s mořským pískem. K rozetřenému vzorku bylo přidáno 50,0 ml směsi ( $\text{CH}_3\text{OH}:\text{H}_2\text{O}:\text{H}_3\text{PO}_4$  v poměru 99 : 0,5 : 0,5) a vzorek se nechal 15 min extrahovat. Získaný extrakt se pak přefiltroval a do filtrátu bylo přidáno 15 ml Carez I a 15 ml Carez II, aby byly vysráženy škroby obsažené ve filtrátu. Tento roztok byl opět přefiltrován. Do tohoto roztoku bylo poté přidáno 16,0 ml octanu olovnatého na konečné vysrážení škrobu a proteinů a roztok byl opět přefiltrován. Chromatografická separace probíhala na koloně SUPELCOSIL C8, 5  $\mu\text{m}$  (15 cm  $\times$  4,6 mm). Eluce byla prováděna izokraticky s mobilní fází ( $\text{CH}_3:\text{H}_2\text{O}:\text{H}_3\text{PO}_4$  v poměru 99 : 0,5 : 0,5) při 30  $^\circ\text{C}$  a průtoku 1,1 ml  $\text{min}^{-1}$ . Detekce kyseliny askorbové byla prováděna pomocí potenciálu na dvou kanálech s napětími  $K_1 = 600$  mV a  $K_2 = 650$  mV. Obsah vitamínu C ve vzorku brambor byl vypočítán z kalibrační rovnice, kdy kalibrační křivka byla sestavena jako závislost plochy píku na koncentraci vitamínu C. Obsah vitamínu C ve vzorcích brambor byl  $5,67 \pm 0,088$  mg/100 g.

#### LITERATURA

1. Lisinska G., Golubovska G.: Food Chem. 93, 681 (2005).
2. Ulvskov P., Wium H: Planta 220 (4), 609 (2005).

3. Bárta J., Čurn V.: Chem. Listy 98, 373 (2004).  
**STRUKTURNÍ CHARAKTERIZACE CHITIN/  
 GLUKANOVÝCH KOMPLEXŮ IZOLOVANÝCH  
 Z HOUBY *Pleurotus* sp. A MYCELIA  
*Aspergillus niger***

**JIŘÍ SPĚVÁČEK<sup>a</sup>, ANDRIY SYNYTSYA<sup>b</sup>, JIŘÍ  
 BRUS<sup>a</sup>, JANA EDEROVÁ<sup>c</sup> a JANA ČOPÍKOVÁ<sup>b</sup>**

<sup>a</sup> Ústav makromolekulární chemie AV ČR, Heyrovského nám. 2, 162 06 Praha 6; <sup>b</sup> Ústav chemie a technologie sacharidů VŠCHT, Technická 5, 166 28 Praha 6;

<sup>c</sup> Centrální laboratoře VŠCHT, Technická 5, 166 28 Praha 6  
 spevacek@imc.cas.cz

V posledních 15 letech je věnována značná pozornost  $\beta$ -glukanům izolovaným z buněčných stěn hub, které působí jako nespecifické modulatory imunitního systému<sup>1</sup>. Byl též popsán účinek  $\beta$ -glukanů na redukci cholesterolu a glukosy v krvi<sup>2</sup>. V houbách tvoří glukany ve vodě nerozpustné komplexy s chitinem<sup>3</sup>. Cílem naší studie bylo charakterizovat složení a strukturu nerozpustných chitin/glukanových komplexů izolovaných z houby *Pleurotus* sp. a mycelia *Aspergillus niger* kombinací <sup>13</sup>C NMR spektroskopie pevného stavu, infračervené (IČ) spektroskopie a termálních metod (dynamická kalorimetrie, termogravimetrická analýza).

<sup>13</sup>C CP/MAS (cross polarization/magic angle spinning) NMR spektra pevného stavu serie vzorků izolovaných jako nerozpustné podíly po extrakci z houby *Pleurotus* sp. a mycelia *Aspergillus niger*<sup>4</sup> potvrdila, že se skutečně jedná o chitin/glukanové komplexy a umožnila stanovit jejich složení. Ve vzorcích izolovaných z houby *Pleurotus* sp. byl obsah  $\beta$ -glukanů vždy větší v třeni než v klobouku. Stejný výsledek byl též získán IČ spektroskopii, která prokázala přítomnost chitinové složky z amidových pásů. Termální analýza chitin/glukanového komplexu izolovaného za alkalických podmínek z mycelia *Aspergillus niger* potvrdila odstranění bílkovin a lipidů, a částečnou deacetylaci chitinové složky.

U <sup>13</sup>C CP/MAS NMR spekter byla detailněji analyzována karbonylová oblast chitinové složky. U chitin/glukanových komplexů izolovaných z mycelia *Aspergillus niger* byl tvar i chemický posun karbonylového pásu prakticky stejný jako u samotného  $\alpha$ -chitinu. To ukazuje na strukturu s chitinovou páteří a visícími  $\beta$ -glukanovými rouby, které jsou pravděpodobně vázány kovalentními vazbami<sup>3</sup>. Naproti tomu u chitin/glukanových komplexů izolovaných z *Pleurotus* sp. jsme detegovali jen jeden signál karbonylových uhlíků, jehož chemický posun byl o 1,5 ppm větší ve srovnání s hlavním karbonylovým signálem samotného  $\alpha$ -chitinu. Tento výsledek naznačuje, že v tomto případě se karbonylové skupiny podílejí na stabilizaci komplexu tvorbou vodíkových vazeb s hydroxy skupinami glukánové složky a zároveň ukazuje na souběžné uspořádání obou složek tohoto chitin/glukanového komplexu.

*Tato práce vznikla za podpory grantu GA ČR 525/05/0273.*

#### LITERATURA

1. Šandula J., Kogan G., Kačuráková M., Machová E.: *Carbohydr. Polym.* 38, 247 (1999).
2. Manzi P., Pizzoferrato L.: *Food Chem.* 68, 315 (2000).
3. Tarabukina E. B., Kalinina N. A., Adamov A. V., Petrova V. A., Nudga L. A., Klenin S. I.: *Vysokomol. Soedin. Ser. A* 47, 778 (2005).
4. Míčková K., Blažková P., Černá J., Čopíková J., Synytsya A., Synytsya A., Spěváček J., Jablonský I., Erban V.: *Chem. Listy* 99, 666 (2005).

#### VYUŽITÍ SPEKTROSKOPICKÝCH METOD PŘI URČOVÁNÍ STRUKTURY POLYSACHARIDŮ

*Plenární přednáška*

**ANDRIY SYNITSYA, PETRA BLAFKOVÁ, JIŘÍ SPĚVÁČEK a JANA ČOPÍKOVÁ**

*Vysoká škola chemicko technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6  
sinicaa@vscht.cz*

Polysacharidy jsou biopolymery rozmanité struktury v závislosti na původu a úloze v organismu. Mohou mít lineární nebo větvené řetězce, obsahovat jeden nebo více druhů monosaridových jednotek (homo- a heteropolysacharidy) a další funkční skupiny (karboxylové, aminové, esterové, *N*- a *O*-acetylové atd.). Jednotlivé polysacharidy se také rozlišují podle geometrie glykosidových vazeb a způsobu vazby jednotek. Strukturní vlastností polysacharidů a jejich derivátů ovlivňují použití těchto biopolymerů v průmyslu a zdravotnictví, a proto strukturní analýza těchto přírodních polymerů má velký význam.

Spektroskopické metody jsou široce používány při analýze biologických a potravinářských vzorků obsahujících polysacharidy a mají velké možnosti při analýze jejich strukturních vlastností. Tak např. FT-IR spektroskopie je užitečná pro odhalení funkčních skupin polysacharidů – methylových, acetylových a ferulylových esterů u pektinů<sup>1</sup>, *N*-alkylamidových skupin u derivátů HM pektinu<sup>2,3</sup>, *N*-acetamidů u chitosanů<sup>4</sup>. Detekce D-anhydrogalaktosy a sulfátových skupin pomocí FT-IR umožňuje rozlišovat různé typy karagenanů<sup>5</sup>. FT-IR spektroskopie je užitečná při analýze potravinových doplňků obsahujících chitosan vedle dalších látek (celulosa a jiné součásti vlákniny, dále kyselina askorbová). Ramanova spektroskopie je vhodná ke studiu struktury polysacharidů na základě skeletních pásů, lze např. rozlišovat vedle sebe methoxylové a acetylové skupiny u komerčních pektinů<sup>1</sup> a identifikovat

polysacharidy z mořských řas<sup>5</sup>.

Další zajímavou metodou studia struktury polysacharidů je nukleární magnetická rezonance (NMR), a to jak v roztoku, tak i v pevné fázi. Pomocí <sup>1</sup>H NMR spekter v roztoku byl stanoven obsah *O*-methylových a *O*-acetylových skupin u pektinů<sup>6</sup> a *N*-acetylových skupin u chitosanů<sup>7</sup>. <sup>13</sup>C CP-MAS NMR spektra pevných vzorků těchto polysacharidů byly využity k jejich další charakterizaci<sup>8,9</sup>.

Pomocí FT-IR a Ramanové spektroskopie byly sledovány strukturní rozdíly mezi 16 komerčními mléčnany chitosanu. Bylo zjištěno, že tyto vzorky mají výrazné rozdíly v obsahu mléčnanu a *N*-acetylových skupin, přičemž část aminoskupin byla ve formě NH<sub>2</sub> a nevázána na mléčnan. Separace pásů FT-IR spekter mléčnanů chitosanu v oblasti 1750–1220 cm<sup>-1</sup> umožňuje odhalení jednotlivých funkčních skupin (COO<sup>-</sup>, CONHAc, NH<sub>2</sub> a NH<sub>3</sub><sup>+</sup>). Rozdíly mezi vzorky chitinu a chitosanů byly prokázány pomocí multivariační analýzy. Výsledky FT-IR a Ramanovy spektroskopie dobře korelovali s organickou elementární analýzou a stanovením stupně deacetylace chitosanu pomocí 1. derivace UV absorpčních spekter a <sup>1</sup>H NMR.

*Tato práce vznikla za podpory grantové agentury GA ČR, č. 525/05/0273.*

#### LITERATURA

1. Synytsya A., Čopíková J., Prutyánov V., Skoblyya S., Matějka P., Machovič V.: *Carbohydr. Polym.* 54, 97 (2003).
2. Sinitsya A., Čopíková J., Prutyánov V., Skoblyya S., Machovič V.: *Carbohydr. Polym.* 42, 359 (2000).
3. Synytsya A., Čopíková J., Marounek M., Mlčochová P., Sihelníková L., Skoblyya S., Havlátová H., Matějka P., Maryška M., Machovič V.: *Carbohydr. Polym.* 56, 169 (2004).
4. Duarte M. L., Ferreira M. C., Marvão M. R., Rocha J.: *Int. J. Biol. Macromol.* 31, 1 (2002).
5. Pereira L., Sousa A., Coelho H., Amado A. M., Ribeiro-Claro P. J. A.: *Biomol. Engineer.* 20, 223 (2003).
6. Be'douet L., Courtois, Courtois J.: *Carbohydr. Res.* 338, 379 (2003).
7. Lavertu M., Xia Z., Serreqi A. N., Berrada M., Rodrigues A., Wang D., Buschmann M. D., Gupta A.: *J. Pharmaceut. Biomed. Anal.* 32, 1149 (2003).
8. Sinitsya A., Čopíková J., Pavlíková H.: *J. Carbohydr. Chem.* 17, 279 (1998).
9. Heux L., Brugnerotto J., Desbrières J., Versali M.-F., Rinaudo M.: *Biomacromol.* 1, 746 (2000).

## VARIABILITA NEŠKROBOVÝCH POLYSACHARIDŮ V ZRNĚ REGISTROVANÝCH ODRŮD PŠENICE OZIMÉ

KATEŘINA VACULOVÁ<sup>a,\*</sup>, SIMONA HORÁČKOVÁ<sup>a</sup>, JAROSLAVA EHRENBERGEROVÁ<sup>b</sup>, VLADIMÍRA HORÁKOVÁ<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Agrotest fyto, s.r.o. a Zemědělský výzkumný ústav Kroměříž, s.r.o., Havlíčkova 2787, 767 01 Kroměříž, <sup>b</sup> Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, <sup>c</sup> Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Hroznová 2, 656 06 Brno  
vaculova@vukrom.cz

Obsah a vlastnosti neškrobových polysacharidů (NSP) ovlivňují jak ekonomicky významné technologické aspekty, tak i krmnou kvalitu a nutriční hodnotu zrna pšenice (Guttieri a Souza 2003, Danicke et al. 1999). U 17 registrovaných odrůd pšenice ozimé (jakostní kategorie E, A, B a C), pěstovaných v pokusech ÚKZÚZ v letech 2002–04 byl sledován obsah a variabilita pentosanů (měřených spektrofotometrickou metodou – Douglas, 1981) a  $\beta$ -glukanů (BG- metodou FIA dle EBC 8.13.2, 2001) a jejich vztah k dalším kvalitativním parametrům zrna i některým hospodářsky významným ukazatelům.

Průměrný obsah pentosanů v zrně dosahoval  $57,48 \pm 1,06 \text{ g kg}^{-1}$  (rozsah 42,8–76,6  $\text{g kg}^{-1}$ ;  $V_k=13,13 \%$ ), zatímco obsah BG byl  $6,41 \pm 0,12 \text{ g kg}^{-1}$  (rozsah 4,61 až 8,22  $\text{g kg}^{-1}$ ;  $V_k=13,89 \%$ ). Nejvíce pentosanů měly pšenice kategorie E, nejvyšší obsah BG byl naměřen v kategorii B (pekařská jakost chlebová). Statisticky významně nejvyšší obsah pentosanů (70,17  $\text{g kg}^{-1}$ ) i BG (8,03  $\text{g kg}^{-1}$ ) však měla odrůda Sulamit, která se tak prakticky lišila od většiny sledovaných pšenic.

Vzájemné vztahy mezi NSP i korelace s dalšími kvalitativními parametry a hospodářskými ukazateli se lišily v rámci jednotlivých jakostních kategorií. Vzhledem k malému počtu sledovaných odrůd byla většina naměřených koeficientů neprůkazná.

*Tato práce vznikla za podpory výzkumného projektu MZe ČR QF3133 a MŠMT ČR 1M6215648902.*

### LITERATURA

- Guttieri M. J., Souza E: Crop Sci. 43, 1628 (2003).
- Danicke S., Simon O., Jeroch H., Keller K., Glaser K., Kluge H., Bedford, M. R.: Arch. Anim. Nutr. 52, 3, 245 (1999).
- EBC Analytica-EBC, kap. 8.13.2, 1998 (rev. 1999–2001).
- Douglas S.: Food Chem. 7, 139 (1981).

## VYUŽITÍ TERMICKÉ ANALÝZY PŘI URČOVÁNÍ STRUKTURY GLUKANŮ

ANEŽKA VESELÁ, JANA EDEROVÁ, ANDRIJ SYNYTSYA a JANA ČOPIKOVÁ

Vysoká škola chemicko technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6  
anezka.trilcova@vscht.cz

Termická analýza se jeví jako vhodná metoda při studiu polysacharidů. Příspěvek je zaměřen na analýzu glukánů a jejich derivátů.

Přestože glukany a jejich deriváty nejsou chemická individua, mohou být termickou analýzou rozlišeny. Příkladem mohou být škrob a jeho deriváty, celuloza a její deriváty, chitin a chitosany s různými stupni deacetylace.

*Tato práce vznikla za podpory výzkumného záměru MŠMT 6046137305.*

## ÚČINEK AMIDOVANÉHO PEKTINU A CHOLESTYRAMINU NA METABOLISMUS CHOLESTEROLU V ORGANISMU POTKANŮ

ZDENĚK VOLEK<sup>a</sup>, MILAN MAROUNEK<sup>a,b</sup> a EVA SKŘIVANOVÁ<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Výzkumný ústav živočišné výroby, Přátelství 815, 104 01 Praha 10-Uhřetíněves, <sup>b</sup> Ústav živočišné fyziologie a genetiky, Vídeňská 1028, 142 20 Praha 4  
volek.zdenek@vuzv.cz

Cílem práce bylo porovnat účinky amidovaného pektinu (oktadecylpektinamid<sup>1</sup>) se známou látkou (cholestyramin) na živý organismus, zejména ve vztahu k metabolismu cholesterolu. Nedávné práce zabývající se účinky amidovaných pektinů v porovnání s neupraveným pektinem ukázaly, že modifikované pektiny jsou méně dostupné pro intestinální mikroorganismy<sup>2</sup> a více účinné při snižování hladiny cholesterolu u potkanů<sup>3</sup>. Stejně tak i v případě cholestyraminu byl zjištěn jeho pozitivní vliv na snižování cholesterolu u myší<sup>4</sup>.

Potkani kmene Wistar (137 g na začátku pokusu) byli rozděleni do čtyř skupin po šesti. Do krmné směsi (komerční směs ST 1, Velaz) bylo přidáno 1 % cholesterolu a 5 % Megalacu (směs vápenatých solí mastných kyselin). První (kontrolní) skupina potkanů přijímala směs doplněnou o 6 % celulosy namísto zkoušených látek. Druhá skupina dostávala v krmné směsi 6 % modifikovaného pektinu (oktadecylpektinamid), třetí skupina 3 % cholestyraminu a 4. skupina 6 % cholestyraminu. Po 1-týdenní adaptační periodě následoval vlastní pokus, který trval 4 týdny. Byl sledován vliv výše uvedených aditiv na koncentraci celkového cholesterolu, HDL-cholesterolu, triglyceridů, neutrálních sterolů či celkových sterolů v játrech, séru a výkalech potkanů. Během pokusu se denně zjišťovala individuální spotřeba krmiva a vody, týdně živá hmot-

nost potkanů. Denně se kontroloval zdravotní stav. Týden před koncem pokusu byly shromažďovány výkaly potkanů pro potřebné analýzy. Po ukončení pokusu byli potkani usmrceni. Odebraly se vzorky krve, jaterní tkáň a zjišťovala se hmotnost jater a sleziny.

U potkanů krmených dietou doplněnou o modifikovaný pektin byla zjištěna nejvyšší hmotnost sleziny. U všech pokusných skupin byla zaznamenána signifikantně nižší koncentrace cholesterolu, tuku a neutrálních sterolů v játrech. Dalších významných rozdílů bylo dosaženo v obsahu sérových triglyceridů, hladině celkového a HDL-cholesterolu. U skupiny potkanů přijímajících dietu s 6 % cholestyraminu byla zaznamenána vyšší hladina HDL-cholesterolu ( $P=0,04$ ) a nižší koncentrace triglyceridů ( $P=0,04$ ), zatímco u potkanů s nižší koncentrací cholestyraminu bylo pozorováno snížení celkového cholesterolu ( $P=0,02$ ). Modifikovaný pektin neměl významný vliv na složení krve. Ve výkalech potkanů krmených dietou s 3 % cholestyraminu byl zjištěn vyšší obsah celkových a neut-

rálních sterolů ( $P=0,10$ ) v porovnání s dalšími skupinami.

Závěrem lze konstatovat, že účinky amidovaného pektinu a cholestyraminu na metabolismus cholesterolu jsou podobné. Cholestyramin se celkově jeví více účinný.

*Studie byla podporována výzkumným záměrem (Mze-0002701403).*

#### LITERATURA

1. Synytsya A., Čopíková J., Marounek M., Mlčochová P., Sihelnikova L., Skobly S., Havlátová H., Matějka P., Maryška M., Machovic V.: Carbohyd. Polym. 56, 169 (2004).
2. Marounek M., Synytsya A., Čopíková J., Sirotek K.: Chem. Listy 99, 591 (2005).
3. Volek Z., Marounek M., Skřivanová E.: Chem. Listy 99, 661 (2005).
4. Van Bennekum A. M., Nguyen D. V., Schulthess G., Hauser H., Philips M. C.: Br. J. Nutr. 94, 331 (2005).

**Autorský rejstřík**

- Belcrediová N. 841  
Blafková P. 851  
Brus J. 850  
Březina P. 849  
Buňka F. 849  
Bystrický S. 847  
Coimbra M. A. 846  
Černá J. 846  
Čopíková J. 841, 842, 846, 850, 851, 852  
Ederová J. 850, 852  
Ehrenbergerová J. 841, 852  
Erban V. 841, 842  
Gajdošová A. 842  
Havlová P. 841  
Havrlentová M. 842  
Hermannová M. 848  
Horáčková S. 852  
Horáková V. 852  
Horváthová V. 844  
Hoza I. 849  
Hromádková Z. 843  
Jablonský I. 844  
Kogan G. 844  
Komárková E. 841, 842  
Kraic J. 842, 846  
Kramářová D. 849  
Krčmář M. 847  
Lachká K. 844  
Marounek M. 852  
Maryška M. 846  
Míčková K. 846  
Mikulíková D. 846  
Mlčochová P. 847  
Molík P. 842  
Novák M. 847  
Pristyáková Z. 848  
Rop O. 849  
Ryzner R. 844  
Skřivanová E. 852  
Spěváček J. 846, 850, 851  
Synytsya A. 842, 846, 850, 851, 852  
Vaculová K. 841, 852  
Velebný V. 848  
Veselá A. 852  
Volek Z. 852



ÚOCHB AV ČR

October 6, 2006

# Invited Lecture Series

Topic: Molecular Machines

## Catenanes and Rotaxanes as Molecular Machine Prototypes

Catenanes (interlocking rings) and knots represent attractive synthetic challenges for molecular chemists. Besides their topological properties, these systems can be regarded as works of art at the nanometre scale. Recently, our group has also proposed a transition metal-based strategy for making twodimensional interlocking and threaded networks. Large cyclic assemblies containing several copper(I) centres could be prepared which open the gate to controlled dynamic two-dimensional systems and membrane-like structures consisting of multiple catenanes and rotaxanes.

**Speaker: Professor Jean-Pierre Sauvage**

Laboratoire de Chimie Organo-Minérale,  
Université Louis Pasteur, Strasbourg, France

ÚOCHB AV ČR

Ústav organické chemie a biochemie AV ČR  
Flemingovo nám. 2, Praha 6

Lecture Hall 10:00 am



ÚOCHB AV ČR

October 23, 2006

# Invited Lecture Series

Topic: Reaction Mechanisms

## **Studies of the Mechanism of Metal-Mediated Reactions: Using Labels to Define What Goes Where and When**

At Bristol we have been interested in a number of transformations, such as allylic alkylation (W, Mo, Pd), cycloisomerisation (Pd, Ni, Rh, Ru), hydro-silylation and hydroboration (Rh, Pd), methathesis (Ru), aryne-generation (Li), cyclopropanation (In), epoxidation (Mn), and alkene diamination (Pd, Pt). Recent highlights from our investigations into some of these processes will be presented, with an emphasis on the use of stable isotopes to facilitate desymmetrisation and thus open a window for probing 'what goes where and when'.

**Speaker: Professor Guy C. Lloyd-Jones**

School of Chemistry, University of Bristol, UK

ÚOCHB AV ČR

Ústav organické chemie a biochemie AV ČR  
Flemingovo nám. 2, Praha 6

Lecture Hall 10:00 am





ÚOCHB AV ČR

October 30, 2006

# Invited Lecture Series

Topic: Enantioselective Catalysis

## Enantiofacial Discrimination of Carbon Nucleophiles

Asymmetric formation of C-C bonds, especially to create quaternary centers, represents a very important challenge. Use of metal catalyzed asymmetric allylic alkylations to achieve such a result is particularly problematic since the mechanism of such reactions typically involve C-C bond formation outside the coordination of the metal. Thus, the ability for chiral ligands in such reactions to differentiate the prochiral faces of a carbanion would appear to be unlikely considering the remoteness of the chiral inducing agent and the asymmetric center being created. Nevertheless, exploration of such reaction types and the implication of such reactions for the synthesis of complex bioactive molecules will be discussed.

**Speaker: Professor Barry M. Trost**

Chemistry Department, Stanford University, USA

ÚOCHB AV ČR

Ústav organické chemie a biochemie AV ČR  
Flemingovo nám. 2, Praha 6

Lecture Hall 10:00 am



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

## Proč se stát členem České společnosti chemické

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

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

### Jak se stát členem ČSCH

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

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

---

**OBSAH**

<b>ÚVODNÍK</b>	777
<b>REFERÁTY</b>	
<b>Cukerná nesacharosová sladidla a příbuzné látky</b>	778
J. Čopíková, O. Lapčík, M. Uher, J. Moravcová a P. Drašar	
<b>Spektrofotometrické metody stanovení prvků zásaditými farbivami – Súčasný stav a trendy</b>	784
J. Bazel' a V. Andruch	
<b>Heterogenní katalyzátory pro acylační reakce</b>	790
J. Mayerová	
<b>LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY</b>	
<b>Chování prvků při spalování uhlí – porovnání jejich obsahů v nedopalu, uhlí a popelu</b>	798
L. Bartoňová	
<b>Odstraňování sloučenin mědi a zinku z vod adsorpcí na hydroxidů hořečnatém</b>	803
N. Strnadová a D. Matějková	
<b>Stanovení koncentrace solubilního leptinového receptoru (Ob-Re) pomocí nové metody ELISA</b>	809
D. Stejskal a I. Svoboda	
<b>Chemická a palivová charakteristika anaerobně stabilizovaného čistírenského kalu a jeho popela</b>	813
M. Hartman, M. Pohorelý a O. Trnka	
<b>Spektrofotometrické stanovení uranu(VI) v pří- tomnosti uhličitánů a šťavelanů a jeho využití pro speciální analýzu uranu(VI)</b>	821
M. Germaničová a P. Lubal	
<b>Měkké želatinové tobolky obsahující povrchově aktivní látky a ethanol</b>	828
J. Kolčák, M. Rabišková a M. Stuchlík	
<b>NOMENKLATURA A TERMINOLOGIE</b>	832
<b>VÝUKA CHEMIE</b>	
<b>Teploměr, tlakový hrnec a škola</b>	833
P. Andrýsková a H. Cídllová	
<b>RECENZE</b>	837
<b>POLYSACHARIDY 2006</b>	839

---

**CONTENTS**

<b>EDITORIAL</b>	777
<b>REVIEW ARTICLES</b>	
<b>Non-sucrose Saccharide Sweeteners and Related Compounds</b>	778
J. Čopíková, O. Lapčík, M. Uher, J. Moravcová, and P. Drašar	
<b>Spectrophotometric Determination of Elements Using Basic Dye Reagents – The Present State and Trends</b>	784
J. Bazel' and V. Andruch	
<b>Heterogenous Catalysts for Acylation Reactions</b>	790
J. Mayerová	
<b>LABORATORY EQUIPMENT AND METHODS</b>	
<b>Element Behaviour in Coal Combustion – Compa- rison of Element Contents in Unburnt Carbon, Coal and Bottom Ash</b>	798
L. Bartoňová	
<b>Adsorption of Copper and Zinc from Aqueous Solution on Mg(OH)<sub>2</sub></b>	803
N. Strnadová and D. Matějková	
<b>Analysis of Soluble Leptin Receptor by a New ELISA Method</b>	809
D. Stejskal and I. Svoboda	
<b>Chemical and Fuel Characteristics of Anaero- bically Stabilized Sewage Sludge and Its Ash</b>	813
M. Hartman, M. Pohorelý, and O. Trnka	
<b>Spectrophotometric Determination of Ura- nium(VI) in the Presence of Carbonates and Oxalates and Its Application to Uranium(VI) Speciation Analysis</b>	821
M. Germaničová and P. Lubal	
<b>Soft Gelatin Capsules Containing Surfactants and Ethanol</b>	828
J. Kolčák, M. Rabišková, and M. Stuchlík	
<b>NOMENCLATURE AND TERMINOLOGY</b>	832
<b>EDUCATION IN CHEMISTRY</b>	
<b>Thermometer, Pressure Cooker and School</b>	833
P. Andrýsková and H. Cídllová	
<b>BOOK REVIEWS</b>	837
<b>POLYSACCHARIDES 2006</b>	837

**CHEMICKÉ LISTY • ročník/volume 100 (2006), čís./no. 9 • LISTY CHEMICKÉ, roč./vol. 130, ČASOPIS PRO PRŮMYSL CHEMICKÝ, roč./vol. 116 • ISSN 0009-2770, ISSN 1213-7103 (e-verze) • evidenční číslo MK ČR E 321 • Vydává Česká společnost chemická jako časopis Asociace českých chemických společností ve spolupráci s VŠCHT v Praze, s ČSPCH a ÚOCHB AV ČR za finanční podpory Nadace Český literární fond a kolektivních členů ČSCH • IČO 444715 • Published by the Czech Chemical Society • VEDOUcí REDAKTOR/EDITOR-IN-CHIEF: B. Kratochvíl • REDAKTOŘI/ EDITORS: J. Barek, Z. Bělohav, P. Drašar, J. Hetflejš, P. Holý, J. Horák, P. Chuchvalec, J. Podešva, P. Rauch, J. Volke; Bulletin: I. Valterová; Webové stránky: R. Liboska, P. Zámstný • ZAHRANIČNÍ A OBLASTNÍ REDAKTOŘI/FOREIGN AND REGIONAL EDITORS: F. Švec (USA), V. Větvička (USA), L. Opletal (Hradec Králové) • KONZULTANT/CONSULTANT: J. Kahovec • VÝKONNÁ REDAKTORKA/EDITORIAL ASSISTANT: R. Řápková • REDAKČNÍ RADA/ADVISORY BOARD: E. Borsig, M. Černá, L. Červený, E. Dibuszová, J. Hanika, Z. Havlas, I. Kadlecová, J. Káš, J. Koubek, T. Míšek, J. Pacák, V. Pačes, O. Paleta, V. Růžička, I. Stibor, V. Šimánek, R. Zahradník • ADRESA PRO ZASÍLÁNÍ PŘÍSPĚVKŮ/ MANUSCRIPTS IN CZECH, SLOVAK OR ENGLISH CAN BE SENT TO: Chemické listy, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel./phone +420 221 082 370, fax +420 222 220 184, e-mail: chem.listy@csvts.cz • INFORMACE O PŘEDPLATNÉM, OBJEDNÁVKY, PRODEJ JEDNOTLIVÝCH ČÍSEL A INZERCE/INFORMATION ADS: Sekretariát ČSCH, Novotného lávka 5, 116 68 Praha 1; tel/fax +420 222 220 184, e-mail: chem.spol@csvts.cz, simanek@csvts.cz • PLNÁ VERZE NA INTERNETU/FULL VERSION ON URL: <http://chemicke-listy.vscht.cz> • TISK: České Tiskárny, s.r.o., Ráby 14, 533 52 Staré Hradiště; SAZBA, ZLOM: ČSCH, Chemické listy • Copyright © 2006 Chemické listy/Česká společnost chemická • Cena výtisku 147 Kč, roční plné předplatné 2006 (12 čísel) 1512 Kč, individuální členské předplatné pro členy ČSCH 756 Kč. Roční předplatné ve Slovenské republice 80 EUR (doručování via SCHS), individuální členské předplatné pro členy ČSCH 60 EUR (doručování via SCHS), 225 EUR (individuální doručování) • DISTRIBUTION ABROAD: KUBON & SAGNER, POB 34 01 08, D-80328 Munich, FRG; Annual subscription for 2006 (12 issues) 225 EUR • This journal has been registered with the Copyright Clearance Center, 2322 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923, USA, where the consent and conditions can be obtained for copying the articles for personal or internal use • Pokyny pro autory najdete v čísle 1/2002 a na internetu, zkratky časopisů v čísle 10/97 na str. 911 • Chemické listy obsahující Bulletin jsou zasílány zdarma všem individuálním a kolektivním členům ČSCH a ČSPCH v ČR i zahraničí, do všech relevantních knihoven v ČR a významným představitelům české chemie a chemického průmyslu; v rámci dohod o spolupráci i členům dalších odborných společností • Dáno do tisku 31.8.2006.**